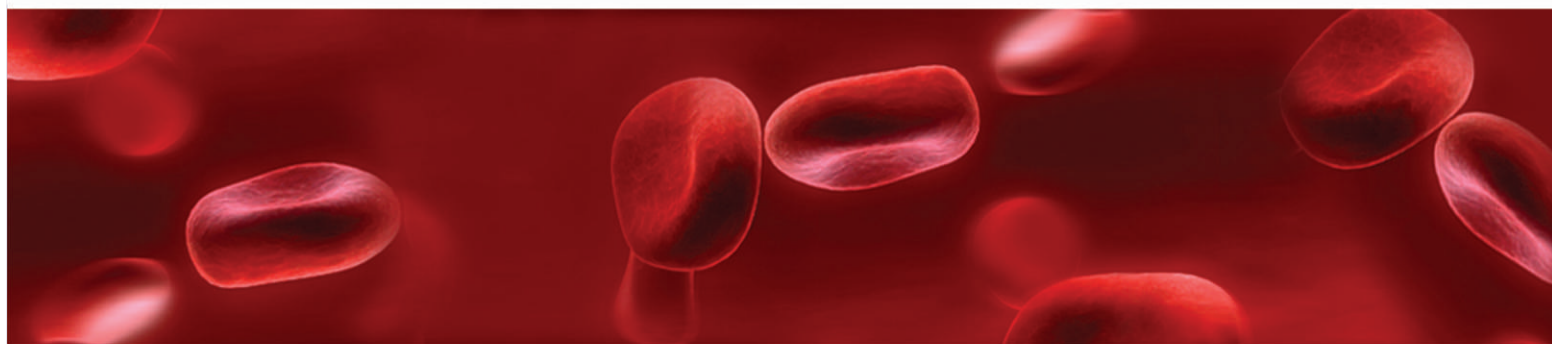




БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО
СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ

КЛИНИЧНА ХЕМАТОЛОГИЯ



ТОМ L - БР. 1-2 - 2014

КЛИНИЧНА ХЕМАТОЛОГИЯ CLINICAL HEMATOLOGY

Списание на Българското медицинско сдружение по хематология
Journal of the Bulgarian Medical Society of Hematology

TOM/VOL. I

2014

№ 1-2

РЕДАКЦИОННА КОЛЕГИЯ

Главен редактор

Проф. д-р Стефан Горанов, дмн
тел./факс: 032 602 481

Зам. главен редактор

Проф. д-р Георги Балаценко, дм
тел.: 02 970 1137

Секретар

Д-р Веселина Горанова-Маринова, дм
тел.: 032 602 596, 032 602 298

Членове

Проф. д-р Георги Михайлов, дм

Проф. д-р Маргарита Генова, дм

Проф. д-р Фани Мартинова, дмн

Проф. д-р Жанет Грудева – Попова, дм

Доц. д-р Лиана Герчева, дм

Доц. д-р Юлиан Райнов, дм

Доц. д-р Валерия Калева, дм

Доц. д-р Евгений Хаджиев, дм

Д-р Лилия Сивчева

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Prof. Stefan Goranov, MD, PhD, DMSc
tel./fax: +359 32 602 481

Associated Editor-in-Chief

Prof. Georgi Balatzenko, MD, PhD
tel./fax: +359 2 970 1137

Secretary

Dr. Vesselin Goranova-Marinova, MD,
PhD, tel.: +359 32 602 596, 602 298

Members

Prof. Dr. Georgi Michaylov, MD PhD

Prof. Dr. Margarita Genova, MD PhD

Prof. Dr. Fani Martinova, MD PhD DMSc

Prof. Janet Grudeva-Popova MD PhD

Ass. Prof. Liana Gercheva, MD PhD

Ass. Prof. Julian Rainov, MD PhD

Ass. Prof. Valeria Kaleva, MD PhD

Ass. Prof. Eugeni Hadjiev, MD PhD

Dr. Lilia Sivcheva

СЪДЪРЖАНИЕ / CONTENT

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ / ORIGINAL ARTICLES

1. JAK2 МУТАЦИЯ И КЛИНИЧЕН ФЕНОТИП П РИ BCR-ABL1 НЕГАТИВНИ „КЛАСИЧЕСКИ ТИП“ ХРОНИЧНИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНИ НЕОПЛАЗИИ, Л. Герчева, А. Желязкова, Г. Балаценко
JAK2 MUTATIONAL BURDEN AND CLINICAL PHENOTYPES IN BCR-ABL1 NEGATIVE “CLASSICAL TYPE” CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASIA, L. Gercheva, A. Zhelyazkova, G. Balatzenko3
2. ДИАГНОСТИЧНО-ТЕРАПЕВТИЧЕН АЛГОРИТЪМ ПРИ ХРОНИЧНАТА БОЛЕСТ НА ПРИСАДКАТА СРЕЩУ ПРИЕМАТЕЛЯ (cGVHD), Г. Михайлов, С. Симеонов, П. Ганева
DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC ALGORITHM IN CHRONIC GRAFT VERSUS HOST DISEASE (CGVHD), G. Mihaylov, S. Simeonov, P. Ganeva14
3. СЕЛЕКЦИЯ НА ДОНОР ЗА АЛОГЕННА ТРАНСПЛАНТАЦИЯ НА ХЕМОПОЕТИЧНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ И РОЛЯ НА HLA ЗА ТЕРАПЕВТИЧНИЯ ИЗХОД, В. Варбанова, Г. Михайлов, Сн. Михайлова, М. Иванова, А. Георгиева, Цв. Луканов, Е. Наумова, А. Михайлова, П. Ганева, Г. Арnaudov, С. Лозенов, С. Тошков
DONOR SELECTION FOR ALLOGENETIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION AND ROLE OF HLA ON OUTCOME, V. Varbanova, G. Mihaylov, S. Mihailova, M. Ivanova, A. Georgieva, Ts. Lukanov, E. Naumova, A. Mihaylova, P. Ganeva, G. Arnaudov, S. Lozenov, S. Toshkov.....23
4. КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА ПАЦИЕНТ С АНГИОИМУНОБЛАСТЕН Т - КЛЕТЪЧЕН ЛИМФОМ, В. Славчева, М. Генова, М. Николова, Н. Цветков, С. Панайотова
A CASE OF ANGIOIMMUNOBLASTIC T-CELL NON - HODGKIN'S LYMPHOMA, V. Slavcheva, M. Guenova, M. Nikolova, N. Tzvetkov, S. Panayotova31
5. ПРИЛАГАНЕ НА НИСКОМОЛЕКУЛНИ ХЕПАРИНИ И АЛОГЕННИ ХЕМОТРАНСФУЗИИ - ПРОУЧВАНЕ НА ТРАНСФУЗИОННИТЕ ТРИГЕРИ ЗА ПРЕВЕНЦИЯ НА ВЕНОЗНИЯТ ТРОМБОЕМБОЛИЗЪМ ПРИ ПЛАНОВА ОТВОРЕНА КОЛОРЕКТАЛНА ОНКОХИРУРГИЯ В БОЛНИЧНИ УСЛОВИЯ, Д. Тонев, И. Груев, Е. Алексиев, И. Иванов, С. Пернишки, М. Таджер
APPLICATION OF LOW MOLECULAR WEIGHT HEPARIN AND ALLOGENIC HEMOTRANSFUSIONS - A STUDY OF HEMOTRANSFUSION TRIGGERS FOR PREVENTION OF VENOUS THROMBOEMBOLISM IN ELECTIVE OPEN ONCOLOGIC COLORECTAL SURGERY, D. Tonev, I. Gruiev, E. Alexiev, I. Ivanov, S. Pernishki, M. Tadger35
6. ЦИТОГЕНЕТИЧЕН ПРОФИЛ И ИЗХОД ПРИ ПАЦИЕНТИ С ВТОРИЧНИ СВЪРЗАНИ С ТЕРАПИЯ МИЕЛОДИСПЛАЗИЯ И ОСТРА ЛЕВКЕМИЯ, И. Мичева, Вл. Геров, Р. Рачев, М. Мехмед, Л. Ангелова, Ц. Русева, Л. Герчева
CYTOGENETIC PROFILE AND OUTCOME OF PATIENTS WITH THERAPY-RELATED MYELODYSPLASIA AND THERAPY-RELATED LEUKEMIA, I. Micheva, Vl. Gerov, R. Rachev, M. Mehmed, L. Angelova, C. Ruseva, L. Gercheva.....42

Списанието се обработва в:

- * EMBASE/Excerpta Medica
- * БД - Българска медицинска литература

КЛИНИЧНА
ХЕМАТОЛОГИЯ бр. 1-2/2014

Клин. хематол.
Klin. hematol.

ISSN 2367-556X
УДК 616.15

**АДРЕС НА РЕДАКЦИОННАТА
КОЛЕГИЯ**

Клиника по клинична хематология
към УМБАЛ „Св Георги” - ЕАД
4002 Пловдив
Бул „Васил Априлов” 15А
тел./факс: 032 602 481
stefangoranov@yahoo.com

EDITORIAL BOARD ADDRESS

Clinic of clinical Hematology,
University Hospital „Sv. Georgi”
4002 Plovdiv
15A, Vasil Aprilov blvd.,
Tel./fax: +359 32 602 481
stefangoranov@yahoo.com

Уредник: Импресив ЕООД, Пловдив
Тел за контакт: 0889 546 506

Медицинска корекция, стил, структура
и статистика:
Д-р Веселина Горанова–Маринова, дм
Д-р Катя Сотирова

Стилова редакция, корекция, графичен
дизайн: Импресив ЕООД, Пловдив,
Тел за контакт: 0889 546 506
sotirov.joro@gmail.com

**МЕТОДИЧНИ УКАЗАНИЯ ЗА ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ И ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА
ЗАБОЛЯВАНИЯТА НА КРЪВТА И КРЪВОТВОРНИТЕ ОРГАНИ**

ГРУПА ЗА МИЕОЛОПРОЛИФЕРАТИВНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

- ОСТРА МИЕЛОИДНА ЛЕВКЕМИЯ, Л. Герчева, Вл. Геров, И. Мичева, М. Генова, Г. Балаценко, В. Стоева, П. Георгиев, В. Гркланов, Г. Цветкова, Н. Петкова, Д. Тодориева, М. Стефанова.....47
- МИЕЛОДИСПЛАСТИЧНИ СИНДРОМИ, Л. Герчева, Вл. Геров, И. Мичева, М. Генова, Г. Балаценко, В. Стоева, П. Георгиев, В. Гркланов, Г. Цветкова, Н. Петкова, Д. Тодориева, М. Стефанова.....57
- ХРОНИЧНА МИЕЛОГЕННА ЛЕВКЕМИЯ, Л. Герчева, Вл. Геров, И. Мичева, М. Генова, Г. Балаценко, В. Стоева, П. Георгиев, В. Гркланов, Г. Цветкова, Н. Петкова, Д. Тодориева, М. Стефанова.....65
- ПОЛИЦИТЕМИЯ ВЕРА, Л. Герчева, Вл. Геров, И. Мичева, М. Генова, Г. Балаценко, В. Стоева, П. Георгиев, В. Гркланов, Г. Цветкова, Н. Петкова, Д. Тодориева, М. Стефанова73
- ЕСЕНЦИАЛНА ТРОМБОЦИТЕМИЯ , Л. Герчева, Вл. Геров, И. Мичева, М. Генова, Г. Балаценко, В. Стоева, П. Георгиев, В. Гркланов, Г. Цветкова, Н. Петкова, Д. Тодориева, М. Стефанова78
- ПЪРВИЧНА МИЕЛОФИБРОЗА, Л. Герчева, Вл. Геров, И. Мичева, М. Генова, Г. Балаценко, В. Стоева, П. Георгиев, В. Гркланов, Г. Цветкова, Н. Петкова, Д. Тодориева, М. Стефанова.....83

ГРУПА ЗА ЗАБОЛЯВАНИЯ НА ПЛАЗМОЦИТНАТА РЕДИЦА

- ЛИМФОЛАЗМОЦИТЕН ЛИМФОМ/МАКРОГЛОБУЛИНЕМИЯ НА WALDENSTRÖM, В. Горанова–Маринова, Н. Цветков, Е. Хаджиев, Г. Арнаудов, В. Геров, А. Недева, В. Врачев, Ст. Горанов.....91
- МУЛТИПЛЕН МИЕЛОМ, В. Горанова–Маринова, Н. Цветков, Е. Хаджиев, Г. Арнаудов, В. Геров, А. Недева, В. Врачев, Ст. Горанов96
- AL-АМИЛОИДОЗА И БОЛЕСТИ НА ЛЕКИТЕ ВЕРИГИ, В. Горанова–Маринова, Н. Цветков, Е. Хаджиев, Г. Арнаудов, В. Геров, А. Недева, В. Врачев, Ст. Горанов107

ЈАК2 МУТАЦИЯ И КЛИНИЧЕН ФЕНОТИП ПРИ BCR-ABL1 НЕГАТИВНИ „КЛАСИЧЕСКИ ТИП“ ХРОНИЧНИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНИ НЕОПЛАЗИИ**Л. Герчева, А. Желязкова, Г. Балаценко**¹Клиника по Хематология, към УМБАЛ „Св. Марина“, Варна, ²Консултант към Pennine Acute Hospitals NHS Trust, ³Лаборатория по молекулярна биология и цитогенетика, НСБАЛХЗ, София

Резюме. Мутацията JAK2V617F е най-често срещаното генетично събитие при BCR-ABL отрицателните хронични миелопролиферативни неоплазии (ХМН). Осъществени са много проучвания, целящи установяване на връзка между мутационния товар и клиничната картина при различните нозологични единици с твърде противоречиви резултати. Цел на настоящата работа е да се анализира зависимостта между JAK2V617F носителството от една страна и клиничната симптоматика, степента на риск и лабораторните отклонения – от друга. Проспективно са изследвани 131 пациенти на клиниката по хематология при УМБАЛ „Св. Марина“ Варна. Корелациите между мутационния товар и клиничните параметри са проследени при всяка една нозологична единица поотделно. Ние установихме по-високо носителство на JAK2V617F мутацията при пациентите с първична миелофиброза (в 70%), в сравнение с литературните данни. При всички нозологични единици се намери права корелационна зависимост между JAK2V617F мутационния товар и степента на риск при пациентите. Нивото на мутационния товар корелира стабилно с конституционалните симптоми при всички диагностични групи, като връзката е най-значима при хомозиготните носители с полицитемия вера (ПВ) и при първичната миелофиброза (ПМФ). При ПМФ и есенциалната тромбocyтeмия (ЕТ) носителите на JAK2V617F са с подчертана левкоцитоза. Изразената симптоматика при JAK2V617F носителите във всички диагностични групи поставя въпроса за разширяване на индикациите за лечение с JAK2 инхибитори.

Ключови думи: JAK2V617F мутация, хронични миелопролиферативни неоплазии, BCR-ABL отрицателни миелопролиферативни неоплазии, полицитемия вера (ПВ), първична миелофиброза (ПМФ), есенциална тромбocyтeмия (ЕТ)

JAK2 MUTATIONAL BURDEN AND CLINICAL PHENOTYPES IN BCR-ABL1 NEGATIVE “CLASSICAL TYPE” CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASIA**L. Gercheva¹, A. Zhelyazkova², G. Balatzenko³**¹Clinic of Hematology, University hospital for active treatment St. Marina, Varna²Consultant at Pennine Acute Hospitals NHS Trust³Laboratory of cytogenetics and molecular biology, NSHATHD, Sofia

Summary: JAK2V617F mutation is the most common genetic event established among BCR-ABL negative chronic myeloproliferative neoplasms (CMNs). Many investigations aimed to discover some correlations between mutational burden and clinical manifestations within every disease entity have been accumulated but with very contradictory results. The aim of this work is to analyze correlations between JAK2V617F mutational burden on one side and clinical symptoms, risk score and laboratory deviations on the other. 131 newly diagnosed patients have been prospectively investigated at the clinic of hematology in University hospital St. Marina, Varna. Correlations between mutational burden and clinical parameters have been followed out in each nosological unit separately. We found out more frequent JAK2V617F mutational burden in patients with primary myelofibrosis (PMF) (70%) compared with literature data. Strong correlation between JAK2V617F mutational burden and the risk score has been found in all patients. The level of JAK2V617F mutational burden correlates firmly with constitutional symptoms in all diagnostic groups with the strongest relation in homozygote patients with polycythemia vera (PV) and primary myelofibrosis (PMF). Marked leukocytosis has been determined in patients with PMF and essential thrombocythemia (ET) who are JAK2V617F mutation carriers. The marked symptoms in all patients with JAK2V617F mutation in all diagnostic groups rise the question for expand of the indications for JAK2 inhibitors therapy.

Key words: JAK2V617F mutation, chronic myeloproliferative neoplasms, BCR-ABL negative chronic myeloproliferative neoplasms, polycythemia vera (PV), primary myelofibrosis (PMF), essential thrombocythemia (ET)

ВЪВЕДЕНИЕ

Откриването на JAK2V617F мутацията бележи нова ера в разгадаването на биологията, клиничното представяне, еволюцията и лечението на миелопролиферативните неоплазии (МПН). Тя се среща в около 95% от пациентите с полицитемия вера (ПВ) и в около 50 – 60% при останалите 2 класически BCR-ABL негативни хронични миелопролиферативни неоплазии (ХМН): есенциалната тромбоцитемия (ЕТ) и първичната миелофиброза (ПМФ)⁽¹⁾. В трансгенетични животински модели е установено, че нивото на експресия на JAK2V617F детерминира фенотипа на МПН⁽²⁾. Серия проучвания са установявали, че хомозиготното носителство на JAK2V617F мутацията се среща по-често при ПВ и ПМФ и по-рядко при ЕТ^(3,4). Нещо повече, в хода на еволюцията към фибротична фаза мутационният товар нараства⁽⁵⁾. Установена е също корелационна зависимост между значимостта на мутационния товар и клиничния фенотип при ПВ: по-изразен сърбеж, по-голяма слезка, по-висок клетъчен брой и по-изразена склонност за еволюция към фибротична фаза⁽⁶⁾. Проучванията върху значимостта на JAK2V617F мутационния товар и клиничния фенотип при ЕТ и ПМФ са по-оскъдни и с противоречиви резултати. Натезават изводите, че при пациентите с ЕТ и ПМФ наличието на JAK2V617F определя по-високи хемоглобиново и левкоцитно нива, установими при диагностициране на заболяванията^(6,7). Все още остава нерешен напълно въпросът има ли връзка между мутационния товар (хомозиготи, хетерозиготи или липса на мутация) и

клинико-лабораторната изява на Ph⁺ отрицателните МПН.

ЦЕЛ на настоящото проучване е при пациенти с BCR-ABL отрицателни МПН да се анализира зависимостта между JAK2V617F носителството (и мутационния товар – хомозиготи, хетерозиготи или „див“ тип) от една страна и клиничната симптоматика, степента на риск, лабораторните отклонения - от друга.

МЕТОДИ И ПАЦИЕНТИ

Използвани са стандартни лабораторни и хистологични техники за изследване на кръвна картина, биохимичен профил, състоянието на костния мозък и рисковата скала при всички пациенти. Мутационният товар JAK2V617F е определян чрез PCR. Хомозиготно носителство (въпреки всички условности) приемахме при количество на мутирал JAK2 над 50%. Статистическият анализ е осъществен с помощта на статистическия пакет SPSS 17.

Демографски и клинични данни:

Проучени са общо 163 пациента с хронични МПН, от които в настоящия анализ са включени 131, диагностицирани и лекувани в клиниката по хематология при УМБАЛ „Св. Марина“ - Варна за 5 годишен период (2008-2013 г.).

На **табл. 1** са представени демографските данни на пациентите, разпределението им по диагнози и най-често използваните кръвни и биохимични показатели при стратификация на рисковите групи.

Табл. 1 Възраст и разпределение на пациентите по диагноза

	ПМФ N=44			ПВ N=61			ЕТ N=26		
	Min	Max	Средно	Min	Max	Средно	Min	Max	Средно
Възраст	44	76	65	23	80	59.3	25	81.	60.4
Hb	34	188	112	105	243	190	75	173	134.4
WBC	1.97	256	25	5	58	13.3	5	22	10.95
PLTs	30	2228	567	100	1300	497.7	600	2600	1121.9
LDH	282	4013	<u>1006</u>	268	2732	644	288	1036	475.0

1. Критерии за диагностициране и стратификация на риска

Използвани са критериите на СЗО 2008 за диагностициране на трите „класически“ BCR-ABL отрицателни МПН. Критериите за стратификация на риска са посочени на табл. 2 и 3. Използвани са показателите възраст, наличие на сърдечно-съдов фактор и тромбоцитен брой в обобщена скала за риск при пациентите с ПВ и ЕТ и Международна прогностична скала за ПМФ⁽⁸⁾.

Табл. 2 Категории риск при пациентите с ПВ и ЕТ

Категории риск при пациенти с ПВ и ЕТ			
Категория риск	Възраст >60 г. или анамнез за тромбоза	Наличие на сърдечно-съдов рисков фактор*	Тромбоцити ≥ 1000
Нисък риск	Не	Не	Не
Междинен риск	Не	Да	Не
Висок риск	Да	-	Да

*Сърдечно-съдови фактори: хипертония, хиперхолестеролемия, захарен диабет, тютюнопушене, затлъстяване

Табл. 3 Категории риск при пациентите с ПМФ

Рискови групи при пациенти с ИМФ (IPSS) ⁽⁸⁾		
Брой прогностични фактори	Рискова група	Средна преживяемост (месеци)
0	Нисък риск	135
1	Междинен-1	95
2	Междинен-2	48
≥ 3	Висок	27

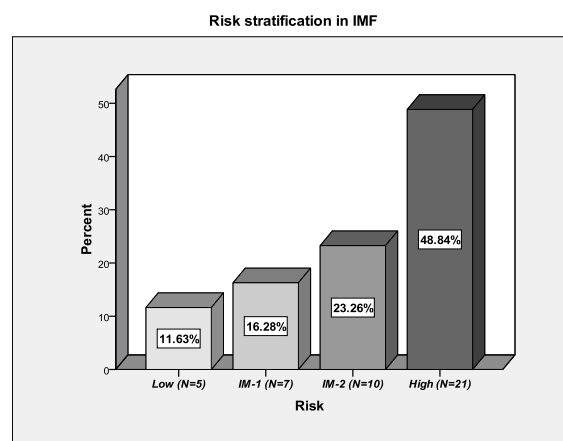
Неблагоприятни прогностични фактори: Хемоглобин < 100g/l; Циркулиращи бласти > 1%; Наличие на конституционални симптоми; Възраст > 65 г.; Левкоцити > $25 \cdot 10^9/l$

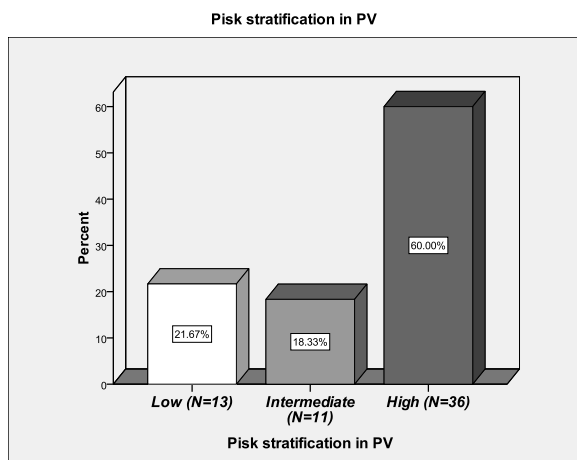
РЕЗУЛТАТИ

1. Разпределение на пациентите според стратификацията на риска при всяка една нозологична единица (представено на фиг. 1,2 и 3)

Фиг. 1 Разпределение според стратификацията на риска при пациенти с първична миелофиброза

От диаграмата се вижда, че при диагностицирането 49% от пациентите с ПМФ са с висок риск. Само 28% от случаите са с нисък и интермедиерен риск 1

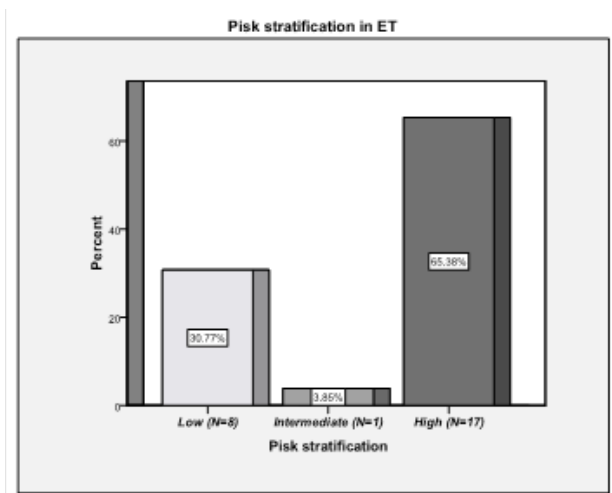




Фиг. 2 Разпределение според стратификацията на риска при пациенти с полицитемия вера

При 60% от пациентите още при диагностициране на заболяването рискът е висок.

Фигура 3: Разпределение според старатификацията на риска при пациенти с ET.



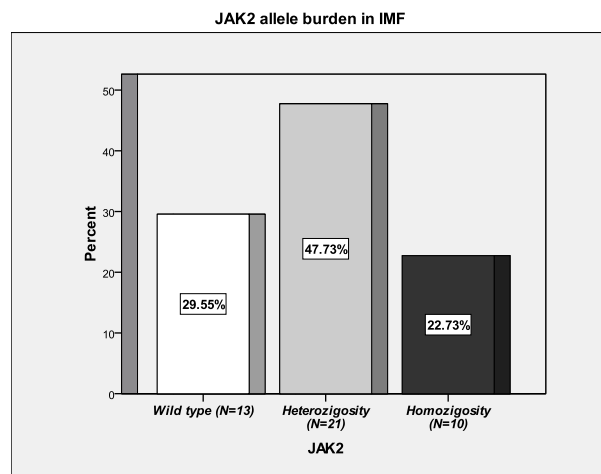
При 65% от пациентите диагнозата се поставя при напреднало заболяване с висок риск.

От представените данни става ясно, че и в трите нозологични групи преобладават пациенти с висок риск на заболяването. Този факт поставя въпроса за продължителността на времето от поява на първите симптоми до поставяне на адекватна диагноза.

2. Корелация между мутационния товар (JAK2 allele burden) и клиничните параметри при пациентите

А. Първична миелофиброза

На **фиг. 4** е представено разпределението на пациентите с ПМФ според мутационния им товар (хомозиготно, хетерозиготно носителство или „див“ тип).



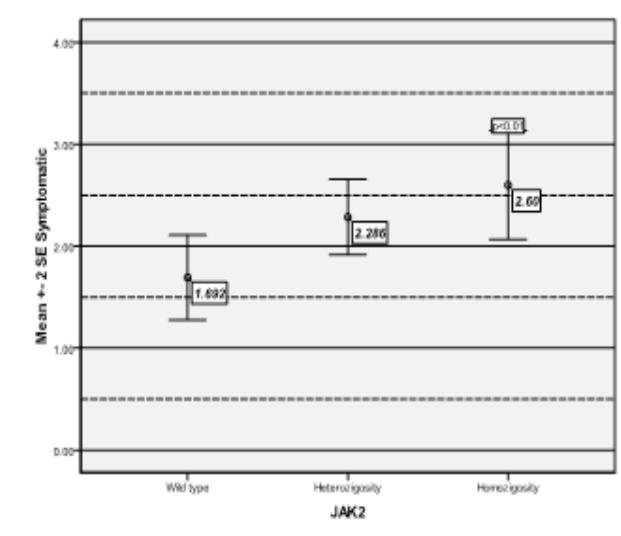
Фигура 4: Разпределение на туморния товар на JAK2 мутацията при пациенти с ПМФ

В групата от 44 пациента с ПМФ носителството на JAK2V617F се среща в 70.46%. С най-висока честота е хетерозиготното носителство (47.73%), следвано от липса на мутация (т. нар. „див“ тип JAK2 – 29.55%), а хомозиготно носителство се установява в 22.73%.

Оскъдните анамнестични данни при голяма част от пациентите, както и липсата на предшестващи изследвания правят възможно попадане в тази група на пациенти с постеритремична миелофиброза, при които мутационното носителство е изразено в много по-висок процент.

Клиничната симптоматика при ПМФ, изразяваща се в т.нар конституционални симптоми: консумация на телло, обилни изпотявания, тежести стомашен дискомфорт, нервност, безсъние и пр.) е обичайно силно изразена. Корелационната зависимост с мутационния товар е посочена на **фиг. 5**.

Фигура 5: Мутационният товар на JAK2 при пациенти с ПМФ - в значима корелационна зависимост с наличието на конституционална симптоматика



Пациентите с ПМФ и носителство на мутацията JAK2V617F са със значимо по изразена конституционална симптоматика спрямо неносителите, като разликата е най-значима при хомозиготите ($p < 0.001$ спрямо „дивия“ тип). В подробности корелационната зависимост между мутационното носителство и клиничните параметри на пациентите с ПМФ е посочена на табл. 4.

Таблица 4: Корелационна зависимост спрямо клинични параметри (подчертани са значимите) при ПМФ (Spearman correlation coefficient)

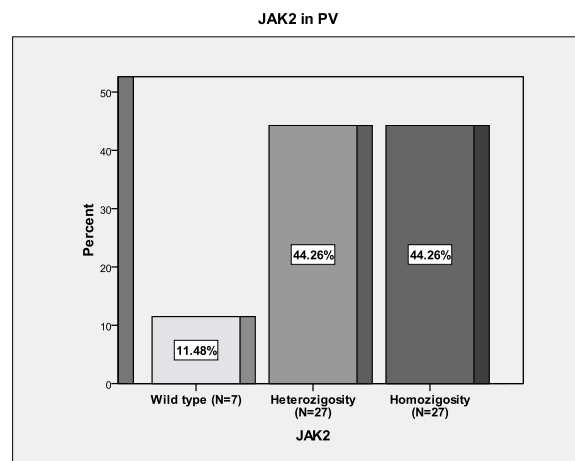
		<i>Risk</i>	<i>Symptomatic</i>	<i>Hb</i>	<i>WBC</i>	<i>PLTs</i>	<i>Spleen</i>	<i>Age</i>
JAK2	Correlation Coefficient	.070	.408**	.220	.334*	.523**	.107	.227
	Sig. (2-tailed)	.654	.006	.151	.027	.000	.491	.138
	N	43	44	44	44	44	44	44
Symptomatic	Correlation Coefficient	.447**	1.000	-.361*	.091	.039	.257	.105
	Sig. (2-tailed)	.003	.	.016	.556	.801	.092	.499
	N	43	44	44	44	44	44	44
Hb	Correlation Coefficient	-.630**	-.361*	1.000	.344*	.546**	-.099	.157
	Sig. (2-tailed)	.000	.016	.	.022	.000	.522	.310
	N	43	44	44	44	44	44	44
WBC	Correlation Coefficient	.167	.091	.344*	1.000	.474**	.170	.237
	Sig. (2-tailed)	.285	.556	.022	.	.001	.269	.122
	N	43	44	44	44	44	44	44
PLTs	Correlation Coefficient	-.195	.039	.546**	.474**	1.000	.008	.281
	Sig. (2-tailed)	.209	.801	.000	.001	.	.957	.065
	N	43	44	44	44	44	44	44

Б. Полицитемия вера

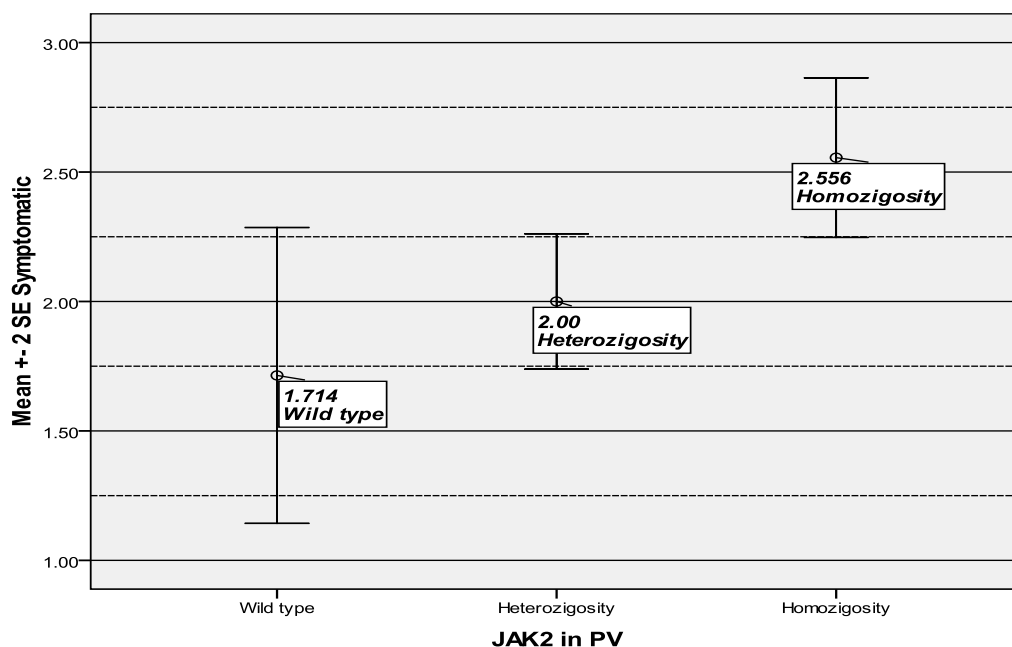
На фиг. 6 е представено разпределението на пациентите с ПВ според мутационния им товар (хомозиготно, хетерозиготно носителство или „див“ тип).

В групата пациенти с ПВ носителството на JAK2V617F се среща в 88.5%, като поравно са представени хомозиготните и хетерозиготни носители.

На фиг. 7 е представена корелационната зависимост между JAK2V617F мутационния товар и конституционалните симптоми.



Фигура 6: Разпределение на туморния товар на JAK2 мутацията при пациенти с ПВ



Фигура 7: JAK2 в значима корелационна зависимост с конституционалната симптоматика при ПВ, подчертано най-изразена при хомозиготното носителство ($p < 0.01$ спрямо Heterozygosity, $p < 0.001$ спрямо Wild type)

В подробности корелационната зависимост между мутационното носителство и клиничните параметри на пациентите с ПВ е посочена на **табл. 5**.

Таблица 5: Корелационни зависимости при пациенти с ПВ (Spearman correlation coefficient)

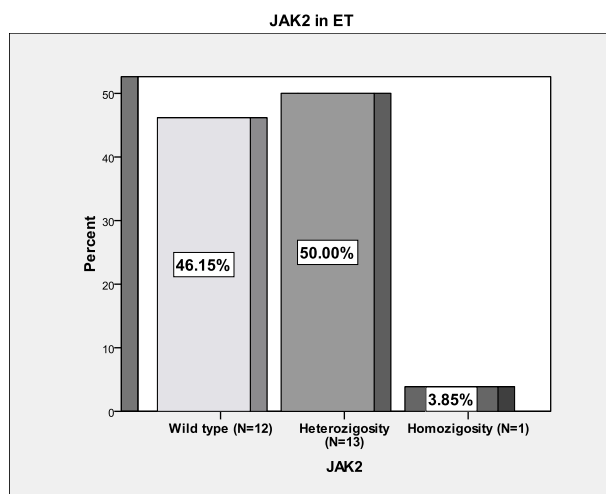
		<i>JAK2</i>	<i>Pisk</i>	<i>PLTs</i>	<i>Symptomatic</i>	<i>Hb</i>	<i>WBC</i>	<i>LDH</i>	<i>Spleen</i>
<i>JAK2</i>	Correlation	1.000	.363**	.136	.431**	.035	.225	.501**	.457**
	Coefficient								
	Sig. (2-tailed)		.004	.294	.001	.787	.081	.000	.000
<i>Pisk</i>	N	61	60	61	61	61	61	56	60
	Correlation	.363**	1.000	.188	.369**	-.015	.359**	.312*	.206
	Coefficient								
<i>PLTs</i>	Sig. (2-tailed)	.004		.150	.004	.910	.005	.020	.117
	N	60	60	60	60	60	60	55	59
	Correlation	.136	.188	1.000	.200	-.379**	.254*	.182	.159
	Coefficient								
	Sig. (2-tailed)	.294	.150		.123	.003	.048	.180	.226
	N	61	60	61	61	61	61	56	60
	Correlation	.431**	.369**	.200	1.000	-.023	.231	.318*	.288*
	Coefficient								
	Sig. (2-tailed)	.001	.004	.123		.863	.074	.017	.026
<i>WBC</i>	N	61	60	61	61	61	61	56	60
	Correlation	.225	.359**	.254*	.231	-.115	1.000	.259	.044
	Coefficient								
	Sig. (2-tailed)	.081	.005	.048	.074	.378		.054	.737
	N	61	60	61	61	61	61	56	60
<i>LDH</i>	Correlation	.501**	.312*	.182	.318*	-.124	.259	1.000	.512**
	Coefficient								
	Sig. (2-tailed)	.000	.020	.180	.017	.362	.054		.000
<i>Spleen</i>	N	56	55	56	56	56	56	56	55
	Correlation	.457**	.206	.159	.288*	-.171	.044	.512**	1.000
	Coefficient								
	Sig. (2-tailed)	.000	.117	.226	.026	.193	.737	.000	
	N	60	59	60	60	60	60	55	60

Значими корелационни зависимости се установяват между нивото на туморния JAK2V617F товар, спленомегалията, нивото на ЛДХ, симптоматиката и рисковата скала при пациентите с полицитемия вера.

В. Есенциална тромбоцитемия

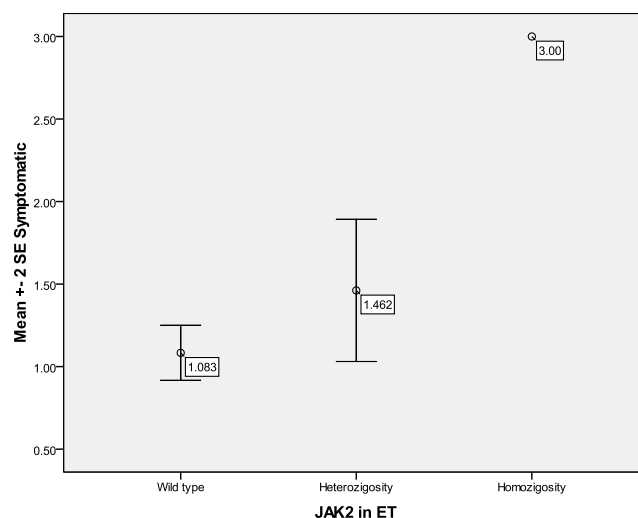
На фиг. 8 е представено разпределението на пациентите с ЕТ според мутационния им товар (хомозиготно, хетерозиготно носителство или „див“ тип).

Фигура 8: Разпределение на туморния товар на JAK2 мутацията при пациенти с ЕТ



При пациентите с ЕТ превалират хетерозиготните носители на JAK2V617F, следвани от неносителите. Честотата на хомозиготно носителство в тази група пациенти е много ниска (около 4%). Това е нозологичната единица с най-висок процент на „дивия“ тип JAK2. Установява се значима корелационна зависимост между хетерозиготното носителство на JAK2V617F и наличието на конституционална симптоматика (фиг.9).

Фигура 9: JAK2 хетерозиготите със ЕТ са в значима корелационна зависимост с конституционалната симптоматика ($p < 0.05$).



Вподробности корелационните зависимости при пациентите с ЕТ са представени на табл.6.

Таблица 6: Корелационни зависимости при пациенти с ЕТ (Spearman correlation coefficient)

		<i>JAK2</i>	<i>Risk</i>	<i>Symptomatic</i>	<i>Hb</i>	<i>WBC</i>	<i>PLTs</i>	<i>LDH</i>	<i>Spleen</i>	<i>Age</i>
<i>JAK2</i>	Correlation	1.000	.449*	.407*	.209	.494*	.194	-.216	.091	.294
	Coefficient									
	Sig. (2-tailed)		.022	.039	.307	.012	.343	.288	.660	.144
<i>Risk stratification</i>	N	26	26	26	26	25	26	26	26	26
	Correlation	.449*	1.000	.276	.191	.209	.447*	.359	.286	.802**
	Coefficient									
<i>Symptomatic</i>	Sig. (2-tailed)	.022		.172	.351	.315	.022	.072	.157	.000
	N	26	26	26	26	25	26	26	26	26
	Correlation	.407*	.276	1.000	-.151	.429*	.447*	.478*	.511**	-.005
<i>WBC</i>	Coefficient									
	Sig. (2-tailed)	.039	.172		.462	.032	.022	.013	.008	.982
	N	26	26	26	26	25	26	26	26	26
<i>PLTs</i>	Correlation	.494*	.209	.429*	.154	1.000	.600**	.195	.130	.126
	Coefficient									
	Sig. (2-tailed)	.012	.315	.032	.463		.002	.350	.536	.547
<i>LDH</i>	N	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	Correlation	.194	.447*	.447*	.004	.600**	1.000	.589**	.339	.274
	Coefficient									
<i>Spleen</i>	Sig. (2-tailed)	.343	.022	.022	.985	.002		.002	.091	.176
	N	26	26	26	26	25	26	26	26	26
	Correlation	-.216	.359	.478*	.073	.195	.589**	1.000	.356	.262
<i>Age</i>	Coefficient									
	Sig. (2-tailed)	.288	.072	.013	.722	.350	.002		.074	.196
	N	26	26	26	26	25	26	26	26	26
<i>Spleen</i>	Correlation	.091	.286	.511**	-.364	.130	.339	.356	1.000	.085
	Coefficient									
	Sig. (2-tailed)	.660	.157	.008	.067	.536	.091	.074		.681
<i>Age</i>	N	26	26	26	26	25	26	26	26	26
	Correlation	.294	.802**	-.005	.072	.126	.274	.262	.085	1.000
	Coefficient									
	Sig. (2-tailed)	.144	.000	.982	.726	.547	.176	.196	.681	
	N	26	26	26	26	25	26	26	26	26
	Correlation									

ОБСЪЖДАНЕ

Първична миелофиброза

JAK2 мутационният статус и JAK2V617F мутационният товар са проучени в над 40 публикации за ПМФ, като най-общо се достига до следните противоречиви заключения:

1. Пациентите с JAK2V617F мутация изискват по-малко трансфузии, но имат по-кратка преживяемост в сравнение с тези без мутация (9).
2. Пациентите с JAK2V617F мутация не показват различия по отношение честотата на тромботичните усложнения, общата преживяемост или преживяемост, свободна от левкемия (10).
3. Пациентите с хомозиготно носителство на JAK2V617F мутация показват склонност към бързо достигане до значима спленомегалия и левкемична трансформация (11).
4. Пациентите с нисък мутационен JAK2V617F товар са с по-кратка преживяемост? (12).

В нашето проучване наличието на JAK2 мутация при ПМФ като цяло (хомозиготи и хетерозиготи) показва значима корелационна зависимост основно с конституционалната симптоматика. Пациентите с носителство на мутацията са със значимо по изразена симптоматика спрямо не-носителите, като разликата е най-силно изразена при хомозиготното носителство ($p < 0.01$ спрямо Wild type). Правата корелационна зависимост между симптоматика и риск, както и обратната между симптоматика и ниво на хемоглобин не са изненадващи, тъй като са заложили в стратификацията на риска при заболяването. Ние не установихме значима корелационна връзка между наличието на JAK2V617F мутацията и броя на левкоцитите, нивото на хемоглобина, и спленомегалията, както това е показано в други проучвания (13). Нашите данни се доближават до тези на Корейския екип, който проучва корелацията между JAK2V617F мутационния товар и клинично-хематологичните параметри при 103 пациенти (14).

Полицитемия вера

Тъй като мутацията JAK2V617F се среща в изключително висок процент при пациентите с ПВ, вниманието на повечето изследователи е насочено към определяне на различията в клиничното протичане между хомозиготните и хетерозиготни варианти. В проучената от нас група пациенти с ПВ хомозиготното и хетерозиготното носителство са разпределени поравно – в по 44.26% от пациентите. Хомозиготното JAK2V617F носителство е свързано значимо с наличие на изразена клинична симптоматика ($p < 0.05$). Мутацията на JAK2 корелира позитивно със стратификацията на риска, нивото на ЛДХ и спленомегалията. В достъпната литература са изнесени твърде противоречиви резултати относно влиянието на мутационния товар на JAK2V617F върху клинично-лабораторните параметри при ПВ. В едни от проучванията високият товар е свързан с линейно повишаване нивото на хемоглобина (15), при други не се наблюдава никаква корелационна зависимост (16). Еднопосочни са данните за по-висок мутационен товар при пациенти с ПВ, прогресиращи към МФ, както и за негативна корелация между мутационния товар и нивото на хемоглобина (17). В нашия анализ липсва ясна корелационна зависимост между изявата на JAK2V617F (хомозиготна или хетерозиготна), степента на левкоцитоза, наличието или липсата на тромбоцитоза и нивото на хемоглобина при пациентите.

Есенциална тромбоцитемия

Литературните данни за ролята на мутационния товар на JAK2V617F при ЕТ са също противоречиви. В няколко проучвания присъствието на мутацията е свързано с напреднала възраст, по-високо ниво на хемоглобин, увеличен левкоцитен брой, нисък тромбоцитен брой и висока вероятност към трансформация в ПВ (18,19). Мета-анализ на Dahabren *et al.* стига до заключението, че присъствието на JAK2V617F провокира по-висок процент фиброза в костния мозък, но няма отношение към еволюцията на заболяването в миелофиброза или остра левкемия (20). Съобщава се за обратна корелационна зависимост между туморния товар и нивото

на тромбоцитозата (21). Почти всички проучвания, обаче, установяват корелация между мутационния товар и степента на спленомегалия, потвърждавайки ролята на мутацията за стимулация на миелопоезата, вкл. екстрамедуларно. В серия от проучвания мутационният товар корелира линейно с левкоцитния брой и големината на слезката (14,21,22). От 26 анализирани случаи в нашето проучване при пациенти с ЕТ, 54% са носители на JAK2V617F. Без разлики по отношение на възрастта, JAK2 мутационното носителство корелира със значимо изразена клинична симптоматика, степен на риск и левкоцитоза. Симптоматичните пациенти са с подчертано по-висок левкоцитен и тромбоцитен брой, ЛДХ и спленомегалия.

ИЗВОДИ

1. В нашето проучване JAK2V617F носителството се установява в по-висок процент сред пациентите с МФ (70%) в сравнение с литетатурните данни.
2. Установява се положителна връзка между JAK2 мутационния товар и степента на риск при всички групи МПН.
3. Носителството на JAK2V617F корелира с наличието на конституционална симптоматика при всички групи МПН.
4. Налице е значима права корелационна зависимост между хомозиготните JAK2V617F носители и степента на изява на симптомите в цялата група МПН, основно за сметка на пациентите с ПВ и ПМФ.
5. JAK2V617F носителите с ПМФ и ЕТ са с подчертана левкоцитоза.
6. JAK2V617F хомозиготните пациенти с ПВ са с подчертана конституционална симптоматика, по-висока ЛДХ активност и изразена спленомегалия
7. Изразената симптоматика при JAK2V617F носителите във всички групи, най-подчертано при

хомозиготите, поставя въпроса за разширяване индикациите за лечение с JAK2 инхибитори

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Cross NC. Genetic and epigenetic complexity in myeloproliferative neoplasms= Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2011; 2011:208-214
2. Tiedt R, Hao-Shen H, Sobas MA et al. Ratio of mutant JAK2-V617F to wild type Jak2 determines the MPD phenotypes in transgenic mice. Blood 2008;111(8):3931-3940
3. Scott LM, Scott MA, Campbell PJ, Green AR. Progenitor homozygous for the V617F mutation occurs in most patients with polycythaemia vera, but not essential thrombocythemia. Blood. 2006;108(7): 2435-2437
4. Delhommeau F, Dupont S, Tonetti C et al. Evidence that the JAK2G1849T (V617F) mutation occurs in a lymphomyeloid progenitor in polycythaemia vera and idiopathic myelofibrosis. Blood 2007; 109(1):71-77
5. Moliterno AR, Williams DM, Rogers O et al. Phenotype variability within JAK2V617F positive MPD: roles of progenitor cell and neutrophil allele burden. Exp. Hematol 2008;36(11):1480-1486
6. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Pardanani A, Tefferi A. Clinical correlates of Jak2V617F presence or allele burden in myeloproliferative neoplasms: a clinical reappraisal. Leukemia 2008;22(7):1299-1307
7. Kiladjian JJ, Cervantes F, Leebeek FW et al. The impact of JAK2 and MPL mutations on diagnosis and prognosis of splanchnic vein thrombosis: a report on 241 cases. Blood 2008;111(1):4922-4929
8. Barosi G, Mesa RA, Thiele J, et al. Proposed criteria for the diagnosis of post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia myelofibrosis: a consensus statement from the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. Leukemia 2008;22:437-438.
9. Campbell PJ, Griesshammer M, Dohner K et al. V617F mutation in JAK2 is associated with poorer survival in idiopathic myelofibrosis. Blood 2006; 107(5):2098-2100
10. Tefferi A, Lasho TL, Huang J et al. Low JAK2V617F allele burden in PMF, compared to either a higher allele burden or unmutated status, is associated with inferior overall and leukemia-free survival. Leukemia 2008; 22(4):756-761
11. Barosi G, Bergamaschi G, Marchetti M et al. JAK2V617F mutational status predicts progression to large splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis. Blood 2007;110(12):4030-4036
12. Guglielmelli P, Barosi G, Specchia G et al. Identification in patients with poorer survival in primary myelofibrosis based on burden of JAK2V617F mutated allele. Blood 2009; 114(8):1477-1484
13. Mishcheniuk OY, Kostukovich OM, Dmytrenko IV et al. Molecular characterization of Ph-negative Myeloproliferative neoplasms in Ukraine. Exp Oncol 2013; 35(3):202-206
14. Ha JS, Kim YK, Jung HR et al. Correlations between Janus kinase 2 V617F allele burden and clinicohematologic parameters in myeloproliferative neoplasms. Ann Lab Med 2012; 32(6):385-391

15. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Prospective identification of high risk polycythemia vera patient based on JAK2V617F allele burden. *Leukemia* 2007;21:1952-1959
16. Tefferi A, Strand JJ, Lasho TL, et al. Bone marrow allele burden and clinical correlates in polycythemia vera. *Leukemia* 2007;21:2074-2075
17. Passamonti F, Rumi E, Caramella M et al. A dynamic prognostic model to predict survival in post-polycythemia vera myelofibrosis. *Blood* 2008;111:3383-3387
18. Campell PJ, Scott LM, Buck G et al. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythemia vera based on JAK2 V617F mutational status: a prospective study. *Lancet* 2005;366(9501): 1945-1953
19. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager S: et al. JAK2 mutation in essential thrombocythaemia: clinical association and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol* 2005; 131(2): 208-213
20. Dahabren IJ, Zoi K, Giannoli S et al. Is JAK2V617F mutation more than a diagnostic index? A meta-analysis of clinical outcomes in essential thrombocythemia. *Leuk Res* 2009; 33(1): 67-73
21. Antonioli E, Guglielmelli P, Poli G et al. Influence of JAK2V617F allele burden on phenotype in essential thrombocythaemia. *Haematologica* 2008; 93: 41-48
22. Kittur J, Knudson RA, Lasho TL et al. Clinical correlates of JAK2V617F allele burden in essential thrombocythaemia. *Cancer* 2007; 109:2279-2284

Адрес за кореспонденция:

Доц. д-р Лиана Герчева, дм
Клиника по хематология при УМБАЛ „Света Марина“
– Варна
Бул. „Христо Смирненски“ №1
Email: lianagercheva@gmail.com

ДИАГНОСТИЧНО-ТЕРАПЕВТИЧЕН АЛГОРИТЪМ ПРИ ХРОНИЧНАТА БОЛЕСТ НА ПРИСАДКАТА СРЕЩУ ПРИЕМАТЕЛЯ (CGVHD)

Г. Михайлов, С. Симеонов, П. Ганева

НСБАЛХЗ – София

DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC ALGORITHM IN CHRONIC GRAFT VERSUS HOST DISEASE (CGVHD)

G. Mihaylov, S. Simeonov, P. Ganeva

National Hospital of Active Treatment of Hematological Diseases, Sofia

Резюме. Реакцията на присадката срещу приемателя (GvHD) е често срещано усложнение след трансплантация на алогенни стволови клетки и една от основните причини за заболяемост и смъртност при дългосрочно преживелите след алогенна трансплантация. В настоящето съобщение, след преглед на наличната литература и съществуващите препоръки за диагноза, стадиране и лечението на хроничната болест на присадката срещу приемателя (cGvHD), са очертани световните консенсусни критерии за лечение на това състояние, включително и вариантите на избор при стероидна рефрактерност. Предлагаме на вниманието на професионалната ни общност един синтезиран диагностично-терапевтичен алгоритъм, с цел постигането на максимално ефективен контрол на cGvHD при минимизиран риск от токсичност и рецидив.

Ключови думи: хронична, GvHD, трансплантация, терапевтичен контрол, диагноза

Summary. Graft-versus-host disease (GvHD) is a common complication following an allogeneic stem cell transplantation and a major cause of morbidity and mortality in long-term survivors of allogeneic stem cell transplantation. In this publication, after reviewing the available literature and the current guidelines for diagnosis, staging and treatment of chronic graft-versus-host disease (cGvHD) we outline the global consensus criteria for treatment of cGvHD, including treatment options for steroid-refractory disease. We hereby present to our professional community an algorithm with recommendations for the diagnosis and staging of cGvHD as well as for its primary treatment. The goal of treatment should be effective control of cGvHD while minimizing risk of toxicity and relapse.

Keywords: chronic, graft-versus-host disease, transplant, management, diagnosis

ВЪВЕДЕНИЕ

Хроничната GvHD е водещата причина за несвързаната с рецидив късна смъртност при алогенни стволово-клетъчни трансплантации (СКТ). Причина

за тази смъртност е както cGvHD, така и самото лечение, поради съпътстващия имунодефицит и токсичност на медикаментите.

Класическата дефиниция за остра (aGvHD) и хронична (cGvHD) болест на присадката

срещу приемателя ги разделя на базата на периода на поява:
aGvHD < 100 дни след инфузията на

хемопоеитични стволови клетки (ХСК)
сGvHD > 100 дни след инфузията на ХСК.

Таблица 1: Разграничаване на остра от хронична GvHD

Категория	Изява на симптоми	Прояви на aGvHD	Прояви на сGvHD
Остра GvHD			
Класическа остра	≤ 100 дни	Да	Не
Персистираща, рекурентна или с късно начало aGvHD	> 100 дни	Да	Не
Хронична GvHD			
Класическа хронична	Без ограничение във времето	Не	Да
Overlap-синдром	Без ограничение във времето	Да	Да

Приети са 2 подкатегории на сGvHD:

- 1) класическа
- 2) overlap-синдром

Възможна е поява преди 100-ия ден на класическа сGvHD, както и съчетанието на прояви на остра и хронична GvHD¹. Разграничаването им е показано на таблица 1:

Честотата на сGvHD варира в голям диапазон – 30-70% при пациентите, преживели алогенна СКТ. Хроничната GvHD възниква в 40% от трансплантациите от HLA-идентични сиблинги, в над 50% при алогенна трансплантация от HLA-неидентични родственици и в 70% от трансплантациите от съвместими неродствени донори. Колкото са по-изразени различията по HLA, толкова по-ранна е изявата на симптомите, като началото им е с медиана 201-ия ден при идентични сиблинги и 133-ия ден при съвместими неродствени донори¹¹. При същото проучване върху 324 болни най-честите локализации на засягане са били устата (89%), кожата (81%), гастроинтестиналният тракт (48%), черния дроб (47%), очите (47%). Началото на болестта е било «тихо» (т.нар. квиесцентно начало, след предшестваща

остра GvHD с период на ремисия) в 60% от болните; прогресивно (сGvHD, която е трансформирала от остра) в 13%; с начало «де ново» (без предшестваща остра GvHD) в 27% от случаите.

Налице са консесусни критерии за определяне стadiите на хроничната GvHD. В последните години са въведени следните критерии на две работни групи:

- NIH consensus development project (2005, 2006 г) – САЩ⁷,
- German-Austrian-Swiss WP on BMBSC (2009 г) – Европа.

ДЕФИНИЦИЯ И ПАТОЛОГИЯ

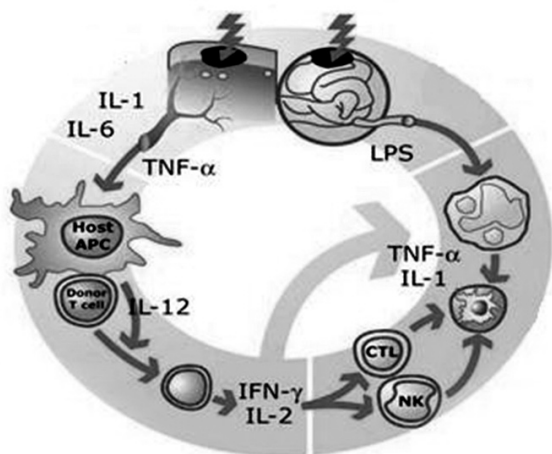
Хроничната GvHD е имунорегулаторно разстройство, възникващо след алогенна СКТ и носи характеристиките както на автоимунно, така и на имунодефицитно състояние. Тя наподобява други автоимунни заболявания като Сьогрен-синдром, склеродермия, първична билиарна цироза и имунните цитопении¹.

Подобно на aGvHD, и за сGvHD се смята, че е предизвикана от имунните клетки на донора – Т-лимфоцитите, по трифазовия

патогенетичен механизъм, показан на фиг.1. Тук обаче патофизиологията на процеса е по-неизяснена. Въпреки възприетата водеща роля на автореактивните Т-лимфоцити, скорошни данни разкриват важността и на В-клетките в процеса³.

Фиг. 1: Трите фази на в патогенезата на GvHD - диаграма от миши модели, демонстрираща главно механизмите на острата GvHD: 1) Тъканна увреда у приемателя при кондиционирането – горе; 2) Активация на донорските Т-клетки – долу вляво; 3) Ефекторна фаза с апоптоза на таргетните клетки на приемателя – долу вдясно.

Легенда: Host APC – антиген-представяща клетка на приемателя; Donor T-cell – Т-клетка на донора; CTL – цитотоксичен лимфоцит; NK – клетка-убиец (NK-клетка); IL – интерлевкин; TNF- α – тъканен некротизиращ фактор алфа; IFN- γ – интерферон гама; LPS – липополизахариди или по-общо-микроб-асоциирани молекули, с антигенни свойства.



Диагноза и степенуване (грейдинг)

Диагнозата на cGvHD се базира на клиничните прояви. Може да бъде засегнат всеки орган със съответните признаци и симптоми, но най-често засягане се наблюдава в кожата, ноктите, устата, очите, женските гениталии, ГИТ, черен дроб, бели дробове, мускули, фасции и стави. Болестта може да е моносимптомна, но може да е и разпространена и да доведе до тежки инвалидизиращи последици като краен стадий на дихателна недостатъчност и ставни контрактури.

От 2005г. наблюденията са обобщени в т.нар. „NIH-консенсус“⁷. Консенсус-групата, представляваща главната здравна институция на САЩ дефинира т.нар „диагностични“ и „отличителни“ признаци, както и неспецифичните и общите за остра и хронична GvHD.

Наличието на диагностичен признак е достатъчно само по себе си за диагнозата „сGvHD“ без допълнителни изследвания. Отличителните признаци изискват потвърждение или чрез биопсия или чрез съответен друг тест, например тест на Ширмер при „сухо око“. Те са представени в таблица 2.

Таблица 2: Признаци и симптоми на хроничната GvHD

Орган/област	Диагностичен	Отличителен	Други характеристики*	Общи х-ки (и за остра, и за хронична GvHD)
Кожа	Пойкилодерма. Lichen planus-подобни прояви	Депигментация	Увреждане на потните жлези. Хипо- и хиперпигментация	Еритема. Макуло-папулозен обрив. Сърбеж
Нокти		Дистрофия. Надлъжни нацепвания		

Коса и скалп		Алопеция	Преждевременно побеляване	
Уста	Lichen planus-подобни прояви	Ксеростомия		Мукозит
Очи		Сухо око.	Фотофобия, блефарит	
Гениталии	Lichen planus-подобни прояви	Ерозии, фисури, язви		
ГИТ	Езофагеална мрежа Стриктура/стеноза на хранопровода		Екзокринна панкреатична недостатъчност	Гадене, повръщане, анорексия, загуба на тегло
Черен дроб				Билирубин или АФ, АЛТ или АСТ >2 x г.граница на норма
Бели дробове	Облитериращ бронхит			Пневмония на базата на облитериращ бронхит
Стави, мускули, фасции	Фасциит, скованост на стави, вторична склероза	Миозит, полимиозит	Оток, мускулни крампи, артралгия, артрит	
Кръвотворене			Тромбоцитопения, еозинофилия, лимфопения, хипо- или	
Други			Периферни невропатии. Миастения гравис. Асцит. Перикарден или плеврален излив	

*** Може да се считат за част от симптоматиката на cGvHD ако бъде потвърдена диагнозата**

Степенуването (грейдинг) е чрез клинична скор-система, като първо се прави 4-степенна (0-3 точки) оценка за тежестта на ангажиране на всеки от органите (кожа, уста, очи, ГИТ, ч.дроб, б.дробове, стави, фасции, женски гениталии) съобразно

критерии. После се прави сбор на точките от засегнатите органи и пациентът бива стадирен в 1 от 3 категории съобразно получения сбор точки (скор) – лека, средна и тежка cGvHD. Това е показано на табл. 3.

Брой органи	Лека cGvHD	Средна cGvHD	Тежка cGvHD
1	Скор 1	Скор 2	Скор 3
2	Скор 1	Скор 2	Скор 3
3		Скор 1	Скор 3
Белодробно ангажиране		Скор 1	Скор 2

Таблица 3: NIH-консенсус за глобално степенуване (грейдинг) на cGvHD⁷

Лека cGvHD – 1 или 2 органа (без бял дроб) с макс. 1т.

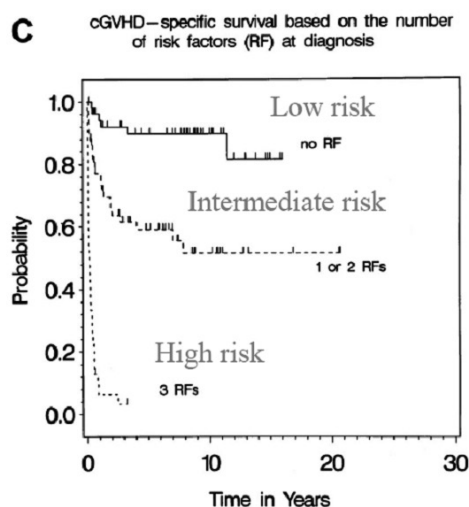
Средна cGvHD – бял дроб с 1т. или 3 органа с по 1т. или 1 орган с 2т.

Тежка cGvHD – бял дроб с 2т. или 3т. в кой да е друг орган.

Проучени са статистически следните прогностични фактори, които в клинично-приложен аспект разпределят пациентите с cGvHD в различни рискови групи:

Акрек et al, 2001 (John Hopkins), извеждат 3 фактора, свързани с лоша прогноза: >50% кожно засягане, тромбоцити <100 Г/л и прогресия от предшестваща остра GvHD, като на тази база пациентите се разделят на такива с нисък риск (нито един рисков фактор), среден риск (1 или 2 фактора) и висок риск (3 рискови фактора). Вероятност за дългосрочна преживяемост е съответно над 80%, около 50% и под 20%. Това е една съвсем лесно приложима и удобна

Фигура 2



Risk Factors

>50% skin surface

Platelet <100.000/uI

Progressive onset

Рискови фактори

Основните рискови фактори за развитието на cGvHD са предшестваща остра GvHD, висока степен на HLA-несъвместимост, по-голяма възраст на пациента, предишна спленектомия, CMV серопозитивност, жена-донор на мъж-реципиент, трансплантация на мобилизирани периферни стволови клетки^{1,6}.

ЛЕЧЕНИЕ

Първа линия лечение

- Кортикостероиди
- Калциневринови инхибитори:
Циклоспорин

Ограниченото кожно засягане налага само локална терапия, с което се избягва имunosупресията, резултат на която могат да бъдат инфекциозни усложнения и другите странични ефекти при дългосрочно прилагане на стероиди.

При разпространено заболяване е необходимо започване на системно лечение.

Стандартът на лечение включва: Преднизонолон 1 мг/кг/ден заедно с Циклоспорин А (CsA) 2 x 5 мг/кг. При добро повлияване на симптомите целта е да се намалява дозата на кортикостероида с 25% седмично и CsA да се редуцира с по 25% седмично – т.нар. „taper“ (англ. – „изтъняване“) на имunosупресивната терапия.

Важен компонент на началната терапия е поддържащото лечение. Най-общо то включва:

- профилактика на инфекциите – инкапсулирани бактерии, пневмоцистна пневмония, цитомегаловирус, варицела-зостер, гъбични инфекции
- профилактика и лечение на: остеопорозата, хипертонията, хипергликемията (стероидния диабет), хиперлипидемията, бъбречната недостатъчност¹⁸.

Препоръки за първа линия лечение:

1. КС се препоръчват като първа линия на лечение на cGvHD: 1А – „сила“ на

препоръката*

2. Препоръчва се начална доза 1 мг/кг преднизон: 1В

Циклоспориновите препарати имат полезна роля в началното лечение като „спестител“ на КС: 2С

Втора линия лечение

- Екстракорпорална фотофереза (ЕКФ)
- М-tor („mammalian target of rapamycin“) – инхибитори
 - Сиrolimus(рапамицин)
 - Еверолимус
 - Такролимус
- Пентостатин (нипент)
- Ритуксимаб
- Иматиниб

Препоръки за втора линия лечение:

1. ЕКФ може да се прилага като 2 линия лечение при кожна, орална или чернодробна cGvHD: 1В
2. Предлага се схема на ЕСР от по 2 последователни процедури всеки 2 седмици за период от 3 месеца: 1С
3. М-tor инхибиторите се предлагат като вариант за 2 линия при рефрактерна cGVHD: 2С
4. Пентостатин се предлага като вариант за 2 линия при рефрактерна cGVHD: 2В
5. Ритуксимаб се предлага като 2 линия при рефрактерна кожна или мускуло-скелетна cGVHD: 2В
6. Иматиниб се предлага като 2 линия при рефрактерна белодробна или склеродермна cGVHD: 2С
7. ЕКФ, иматиниб и ритуксимаб могат да се имат предвид като 3-та линия на лечение при cGVHD, ангажираща други органи: 2С

Трета линия лечение

- Микофенолат мофетил (MMF)
- Пулсове с високи дози КС
- Метотрексат

Препоръки за трета линия лечение:

Предлагат се следните терапевтични агенти като 3-та линия лечение при рефрактерна cGvHD:

MMF, MTX, пулсова терапия с КС: 2C

Други възможни терапевтични агенти

- Хидроксихлороквин
- Клофазимин
- Циклофосфамид
- Алемтузумаб
- Анти-TNF-антитела: инфликсимаб, етанерцепт
- Гръдно-коремна лъчетерапия (1 Gy)
- Талидомид
- Алефацепт
- Даклизумаб/базиликсимаб
- Ретиноиди
- Азатиоприн (имуран)
- Мезенхимни стволови клетки

Препоръки за другите възможни терапевтични средства:

Понастоящем няма достатъчно доказателства, за да се препоръчат следните лечебни средства за cGvHD:

- циклофосфамид, MSC, талидомид, ретиноиди, алемтузумаб, инфликсимаб, етанерцепт, клофазимин, алефацепт, даклизумаб, базиликсимаб, хидроксихлороквин, гръдно-коремно облъчване: 1C
- азатиоприн не се препоръчва при лечението на cGvHD поради риск от злокачествени заболявания на устната кухина: 1C

Обобщение на препоръките за лечение на cGvHD

- Хроничната GvHD и overlap-синдромът следва да се диагностицират основно чрез клинични критерии, подкрепени от биопсия когато е възможно: 1A
- Хроничната GvHD следва да се степенува на лека, средна или тежка според консенсус-критериите на NIH: 1A
- Всеки пациент с белези или симптоми на хронична GvHD в един орган трябва да се изследват за ангажиране в други органи: 1A
- Кортикостероидите (КС) се препоръчват като първа линия на лечение при хронична cGvHD: 1A
- Препоръчва се начална доза от 1 мг/кг-преднизолон: 1B
- Калциневриневриновите инхибитори (циклоспорин ЕкА) могат да са полезни в началното лечение на cGvHD за да не се покачва дозата на КС: 2C
- Екстракорпоралната фотофереза (ЕКФ) може да се включи като втора линия на лечение при засягане на кожа, уста и черен дроб от cGvHD: 1B
- ЕКФ трябва да се провежда по 2 пъти в двуседмичен интервал за период от поне 3 месеца: 1C
- М-tor-инхибиторите се предлагат като втора линия лечение при рефрактерна cGvHD: 2C
- Пентостатин се предлага като втора линия лечение при рефрактерна cGvHD: 2B
- Ритуксимаб се предлага като втора линия лечение при рефрактерна кожна и мускулно-скелетна хронична GvHD: 2B
- Иматиниб се предлага като втора линия лечение при рефрактерна белодробна или склеродермна хронична GvHD: 2C
- ЕКФ, иматиниб и ритуксимаб могат да се включат като трета линия лечение при cGvHD, ангажираща други органи: 2C
- Следните средства се предлагат като трета линия лечение при рефрактерна

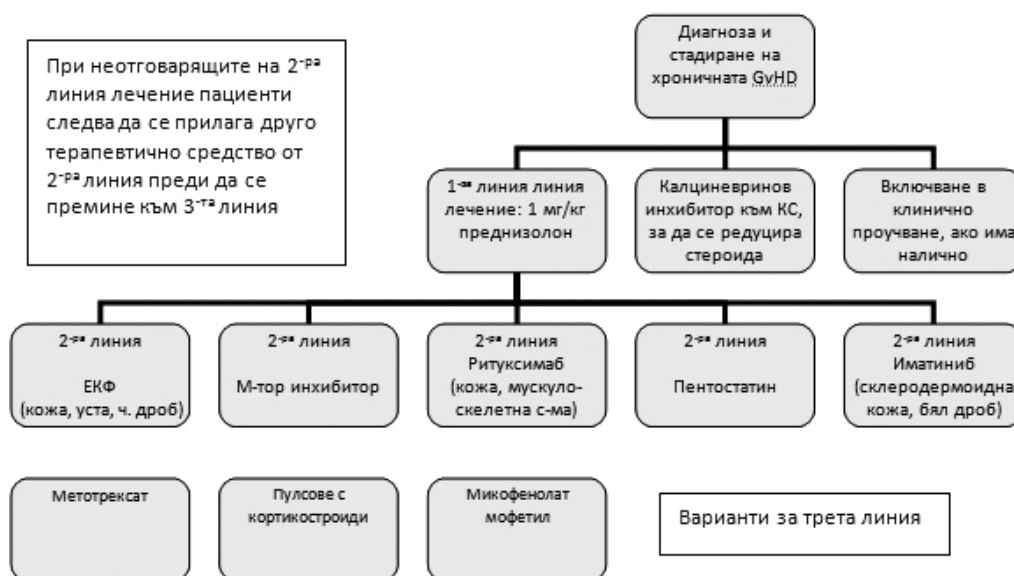
хронична GvHD: микофенолат, метотрексат, КС-пулс: 2С

- Понастоящем няма достатъчно доказателства за включване на следните терапевтични средства при лечението на хронична GvHD: циклофосфамид, мезенхимни стволови клетки, талидомид, ретиноиди, алемтузумаб,

инфликсимаб, етанерцепт, клофазимин, алефацепт, даклизумаб, базиликсимаб, хидроксихлороквин, торако-абдоминално облъчване: 1С

- Азатиоприн не се препоръчва при хронична GvHD поради риск от неоплазия на устната кухина: 1С.

Фигура 3: Алгоритъм за прилагането на 1-ва, 2-ра и 3-та линия лечение при хронична GvHD.



БИБЛИОГРАФИЯ

1. Apperley J, Masszi T. Graft-versus-host disease. In: Haematopoietic Stem Cell Transplantation: The EBMT Handbook, 6th edition, 2012 rev.ed.
2. Flowers MED, Inamoto Y, Carpenter PA et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. Blood 2011; 117: 3214-3219.
3. Penack O, Holler E, van den Brink MRM. Graft-versus-host disease: Regulation by 'liBcrobe-associated molecules and innate immune receptors. Blood 2010; 115: 1865-1872.
4. Glucksberg H, Storb R, Fefer A et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. Transplantation 1974; 18: 295-304.
5. Shimabukuro-Vornhagen A, Hallek MJ, Storb RF, Bergwelt-Baildon MS. The role of B cells in the pathogenesis of graft-versus-host disease. Blood 2009; 114: 4919-4927.
6. Carlens S, Ringden O, Remberger M et al. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation: A retrospective single centre analysis. Bone Marrow Transplant 1998; 22: 755-761.
7. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I Diagnosis and staging working group report. Biol Blood Marrow Transplant 2005; 11: 345-956.
8. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL et al. Chronic graft versus host syndrome in man - A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. Am J Med 1980; 69: 204-217.
9. Akpek G, Zahurak ML, Piantadosi S et al. Development of a prognostic model for grading chronic graft-versus-host disease. Blood 2001; 97: 1219-1226.
10. Arora M, Klein JP, Weisdorf DJ et al. Chronic GVHD risk score: A Center for International Blood and Marrow Transplant Research analysis. Blood 2011; 117: 6714-6720.
11. Sullivan KM, Agura E, Anasetti C et al. Chronic graft-versus-host disease and other complications of bone-marrow transplantation. Semin Hematol 1991; 28: 250-259.
12. Sullivan KM, Witherspoon RP, Storb R et al. Alternating-day cyclosporine and prednisone for treatment of high-risk chronic graft-v-host disease. Blood 1988; 72: 555-561.
13. Koc S, Leisenring W, Flowers MED et al. Therapy for chronic graft-versus-host disease: A randomized trial comparing cyclosporine plus prednisone versus prednisone alone. Blood 2002; 100: 48-51.
14. Arora M, Wagner JE, Davies SM et al. Randomized clinical trial of thalidomide, cyclosporin and prednisone versus cyclosporine and prednisone as initial therapy for chronic graft-versus-host disease. Biol Blood Marrow Transplant

2001; 7: 265-273.

15. Martin PJ, Storer BE, Rowley SD et al. Evaluation of mycophenolate mofetil for ini treatment of chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2009; 113: 5074-5082.
16. Flowers MED, Lee SE, Vogelsang AG. An update on how to treat chronic GVHD. *Blood* \ 102: 2312.
17. Wolff D, Schleuning M, von Harsdorf S et al. Consensus Conference on clinical trials in chronic GVHD: Second-line treatment of chronic graft-versus-host disease. *Biol Bone Marrow Transplant* 2011; 17: 1-17.
18. Couriel D, Carpenter PA, Cutler C et al. Ancillary therapy and supportive care of chrasifj graft-versus-host disease: National Institutes of Health Consensus Development Pnspjj on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: V. Ancillary Therapfs Supportive Care Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12: 375-396.

СЕЛЕКЦИЯ НА ДОНОР ЗА АЛОГЕННА ТРАНСПЛАНТАЦИЯ НА ХЕМОПОЕТИЧНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ И РОЛЯ НА HLA ЗА ТЕРАПЕВТИЧНИЯ ИЗХОД

В. Върбанова¹, Г. Михайлов¹, Сн. Михайлова², М. Иванова², А. Георгиева², Цв. Луканов², Е. Наумова², А. Михайлова², П. Ганева¹, Г. Арnaudов¹, С. Лозенов¹, С. Тошков¹

¹- Специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания, София

²- Клиника по клинична имунология с банка за стволови клетки, УМБАЛ „Александровска“ - София

DONOR SELECTION FOR ALLOGENETIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION AND ROLE OF HLA ON OUTCOME

V. Varbanova¹, G. Mihaylov¹, S. Mihailova², M. Ivanova, A. Georgieva², Ts. Lukanov², E. Naumova², A. Mihaylova², P. Ganeva¹, G. Arnaudov¹, S. Lozenov¹, S. Toshkov¹

1-National Hospital for Hematological Disease, Sofia, Bulgaria

2-Department of Clinical Immunology, University Hospital "Alexandrovsk", Sofia, Bulgaria

Резюме. Системата на човешкия левкоцитарен антиген (human leukocyte antigen, HLA) характеризира се с висока степен на генетична вариабилност определена от известните над 100 серологични специфичности и над 2500 различни алели е основна бариера при провеждането на алогенна трансплантация на хемопоетични стволови клетки (ало-ХСКТ). За да определим вероятността за намиране на родствен/неродствен донор на алогенни стволови клетки анализирахме 210 реципиента и техните потенциални донори. HLA клас I и клас II генотипизиране на антигенно/алелно ниво беше проведено при всички включени в проучването пациенти и техните потенциални донори. За изготвяне на стратегия за подбор на подходящ донор за ало-ХСКТ беше извършено ретроспективно проучване върху 41 двойки след ало-ХСКТ и обзор на наличните литературни данни. Единствено регистрирането на cGvHD степен 3-4 беше асоциирано с неблагоприятен ефект върху TRM (трансплантационно свързана смъртност) и OS (обща преживяемост).

Ключови думи: алогенна трансплантация на хемопоетични стволови клетки, HLA клас I и клас II, реципиент, донор

Summary. The human leukocyte antigen, HLA (HLA) system, characterized with high genetic variability defined by 100 serologically defined specificities and over 2500 alleles, represents a major barrier to , allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). To define the probability to find appropriate allogeneic donor we analyzed 210 recipients and their potential donors. HLA class I and class II genotyping was made for all included individuals. To validate current donor selection strategies, 41 recipients after allo-HSCT, were analyzed in a retrospective study and a review of the literature was done. A negative effect of cGvHD for TRM and OS was observed.

Key words: allogeneic stem cell transplantation, HLA class I and class II, recipient, donor

ВЪВЕДЕНИЕ

Ало-ХСКТ е терапевтична опция целяща излекуване при редица хематологични злокачествени заболявания и други хематологични или имунни разстройства [1]. Подборът на донор на хемопоетични

стволови клетки (ХСК) за ало-ХСКТ се основа почти изключително на съвместимостта между реципиента и потенциалните налични донори определена въз основа на HLA-генотипа. Въз основа на натрупаният клиничен опит в световен мащаб за най-подходящ се приема наличието на HLA

напълно съвместим донор във фамилията или при липса, HLA напълно съвместим неродствен донор (unrelated donor, UD) от международния регистър на донори на стволови клетки и единици пълна връв (Bone Marrow Donors Worldwide, BMDW) [2]. Според Менделовите закони за унаследяване на гените вероятността за наличие на напълно идентични сиблинги в семейството е 25%. За останалите пациенти опция за намиране на подходящ донор на алогенни ХСК е един от 22,832,519 регистрирани неродствени донори на ХСК от периферна кръв или костен мозък в BMDW, но въпреки това не за всеки пациент е възможно намирането на напълно съвместим донор [3]. HLA несъответствието между донора и реципиента се асоциира с повишен риск от отхвърляне на присадката, забавено имунно възстановяване, реакция на присадката срещу приемателя (graft versus host disease, GvHD) и по-висока следтрансплантационна смъртност [4-9]. Затова усилията на различни изследователски екипи са насочени към детайлно разбиране и установяване на допустимите HLA несъвместимости в двойките за ало-ХСКТ и тяхната роля за клиничния резултат от UD HSCT, което да доведе до натрупване на достатъчно доказателства за всеки от изследваните HLA-локуси с цел улесняване и стандартизиране на подбора на донори и увеличаване на броя и успеваемостта на алогените трансплантации от нефамилен донор в световен мащаб [5, 10]

Настоящата статия ще се фокусира върху подбора на донори за ало-ХСКТ в Специализираната болница за лечение на хематологични заболявания – София (СБАЛХЗ) базиран на HLA генотипа на реципиента и потенциалните донори на ХСК, съвременните данни за клиничното значение на HLA несъвместимостта между двойките за ало-ХСКТ и установените в СБАЛХЗ зависимости.

1. HLA генотипизиране

HLA клас I и II локуси са една от най-полиморфните генни системи при човека с алелно разнообразие вариращо в границите от 14 (HLA-DRB4) до 1543 (HLA-B) алели за locus [11]. Характерно за HLA системата е кодоминантната експресия на

всеки ген и качеството да се унаследяват в неравновестна връзка на принципа на скачените гени [12]. По този начин всеки индивид е носител и експресира 12 гена кодирани от класическите HLA молекули: -A, -B, -C, -DR, -DQ, и-DP.

По настояще са разработени и се използват рутинно различни PCR-базирани молекулярно-биологични методики за определяне на HLA клас I и клас II гените: полимеразна верижна реакция със секвенционно специфични праймери (PCR-sequence specific primers, PCR-SSP); полимеразна верижна реакция със секвенционно-специфични олигонуклеотиди (PCR- sequence specific oligonucleotide probe, PCR-SSOP); полимеразна верижна реакция, последвана от секвениране (PCR-sequencing based technique, PCR-SBT) [12]. Първите два метода (PCR-SSO и PCR –SSP) са базирани на използването на олигонуклеотидни сонди или праймери амплифициращи специфични и по-рано известни полиморфни последователности на изследваните HLA алели и техен основен недостатък е, че се основават на ограничен брой предварително известни полиморфизми и невъзможността за идентифициране на нови алели както и относително ниската им разграничителна възможност (антигенно ниво, алелни групи). PCR-SBT методиката се базира на директно циклично секвениране, позволявайки проверка на всички полиморфни и константни позиции в изследваната секвенция. Методиката дава възможност за определяне на съответния HLA клас I ген/алел до четвъртия знак както и идентифицирането на нови алели.

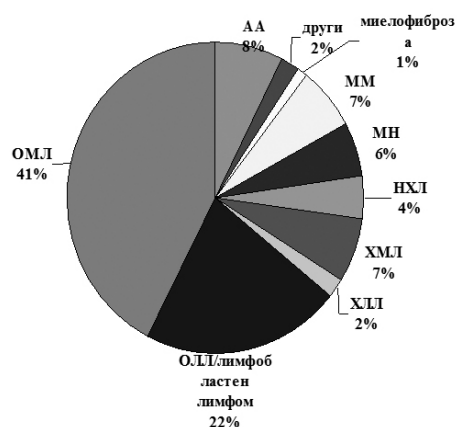
Нивото на HLA несъответствие (антигенно или алелно) повлиява в различна степен изхода от ало-ХСКТ [4, 13, 14]. Чрез секвенционен анализ е демонстрирано, че антигенното различие се асоциира с повече от 10 аминокиселинни различия в кодираните HLA-молекули, които са лесна „мишена“ за разпознаване от имунокомпетентните клетки и са силен стимулатор на имунния отговор [14], докато алелните несъответствия най-често определят различия в един или няколко аминокиселинни остатъка и съответно се

асоциират с по-слаб имуногенен ефект. Тази хипотеза е потвърдена от проучване на US National Marrow Donor Program (NMDP) доказващо, че антигенното несъответствие се асоциира с по-висока смъртност в сравнение с HLA алелната несъвместимост [9]. Затова PCR-SBT методът осигуряващ HLA клас I и клас II генотипизиране до четвърти знак /алелно ниво/ се е наложил като „златен“ стандарт при генотипизирането на реципиент и съответния родствен/неродствен донор на алогенни стволови клетки [15].

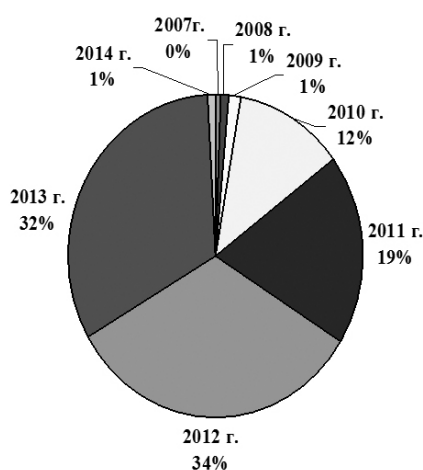
МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ.

Групи изследвани. Двеста и десет пациента с хематологично заболяване, включени в програма за ало-ХСКТ в СБАЛХЗ - София в периода февруари 2007г.- март 2014г. и съответните им потенциални донори бяха изследвани и анализирани в проучването. Характеристиката на включените в проучването потенциални реципиенти е представена на фиг.1.

А



Б



Фигура 1. Характеристика на потенциалните реципиенти: А - според нозологичната единица, Б - според годината на включване в програма за ало-ХСКТ.

В периода ноември 2010г. - март 2014 г. алогенна-ХСКТ е проведена при четиридесет и един пациента (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика на алогенно трансплантираните пациенти

Категория	Брой - n	процент
Години		
20-40	22	53.7
>40	19	46.3
Диагноза		
Остра миелоидна левкемия (ОМЛ)	20	48.8
Остра лимфобластна левкемия (ОЛЛ)	10	24.4
Апластична анемия (АА)	4	9.8
Неходжкинов лимфом (НХЛ)	1	2.4
Болест на Ходжкин (МН)	1	2.4
Мултиплен миелом (ММ)	4	9.8
Стадий на заболяването**		
Ранен	15	36.6

Междинен	16	39.0
Късен	10	24.4
Година на трансплантация		
2010 г.	2	4.9
2011 г.	8	19.5
2012 г.	12	29.3
2013 г.	15	36.6
до 02.2014 г.	4	9.8
Кондициониращ режим		
миелоаблативен	36	87.8
RIC*	5	12.2
Донор		
Родствен донор	26	63.4
Неродствен донор	15	36.6
HLA-съвместимост		
10/10	38	92.7
<10/10	5	7.3
Полова съвместимост		
Донор: жена – реципиент: мъж	9	22.0
EBMT** score		
0-3	19	46.3
4	14	34.2
5-7	8	19.5

RIC – кондициониращ режим с редуцирана интензивност; EBMT score – [16]

Остра и хронична GvHD бяха диагностицирани съобразно стандартните критерии [17]. Клинично значима aGvHD беше приета единствено при пациенти, когато се е налагало прилагането на системни глюкокортикостероиди. Като рецидив са определени случаите, в които след алотрансплантация цитоморфологично или хистологично е доказан субстрат на хематологичното заболяване. С DFS е определен периода от ало-ХСКТ до цитоморфологично или хистологично регистриран рецидив или летален изход. Смъртност несвързана с рецидив на заболяването (NRM, TRM) е дефинирана във всеки случай на летален изход без доказан рецидив след ало-СКТ. OS включва периода от трансплантация на алогенни ХСК до летален изход, независимо от причината или крайната дата на изследването.

HLA клас I и клас II генотипизиране.

HLA генотипизиране на антигенно ниво (алелни групи) беше извършено чрез PCR-SSP метод с търговски китове (Olerup SSP®“HLA-A low resolution”, Olerup SSP®“HLA-B

low resolution”, Olerup SSP™ “HLA-DRB1 low resolution”и Olerup SSP™ “HLA-DQB1 low resolution”, Olerup AB, Sweden) използващи съответно 24, 48, 24 и 6 праймерни смеси, позволяващи определянето на 21 HLA-A, 35 HLA-B, 14 HLA-DRB1 и DRB3*, DRB4*, DRB5* и 5 HLA-DQB1 специфичности.

Генотипизиране на алелно ниво на HLA клас I и клас II локусите беше осъществено чрез секвенционен метод с търговски кит (AlleleSEQR HLA-A, -B, -C, -DRB1 and -DQB1 PCR/Sequencing Kits, Atria Genetics, USA) според инструкциите на производителя и ABI 3100 DNA секвенатор (Applied Biosystems, USA).

СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ.

За изчисляване на вероятността за намиране на потенциален HLA съвместим донор във фамилията или в BMDW беше определен относителния дял чрез измерване на честотите.

За изчисляване на вероятността за OS, DFS и NRM беше използван методът на Kaplan и Meier. Сравнителен анализ между групите в модела на Kaplan-Meier (time-to-event models) в зависимост от фактора

за стратификация беше извършен чрез логаритмична статистика (еднофакторна зависимост, log rank). Оценка на риска за възникване на пострасплантационни компликации беше осъществена чрез измерване на Hazard ratio (HR). Всички описани методи бяха извършени с програмата SPSS for Windows v.16.0.

РЕЗУЛТАТИ

С най-висока честота е търсенето на донор на ХСК за пациенти с ОМЛ/МДС (42%, n=89) и ОЛЛ (22%, n=46), следвани от такива с тежка АА (8%, n=16) и относително еднакъв нисък процент за останалите нозологични групи (фиг.1). Със стартирането на програмата за ало-ХСКТ в СБАЛХЗ през 2010 г. се наблюдава трайно увеличение на броя на търсенията за година, които нарастват от едва 2 търсения годишно за 2008 г. до 69 търсения за 2012 г. и 69 за 2013г.

1. Вероятност за намиране на HLA съвместим донор

1.1 Фамилни проучвания

HLA съвместим донор е търсен във фамилията на 170 от включените в проучването реципиенти (81%) и 10/10 HLA напълно съвместим донор е намерен при 30.6% (n=52, 51 сиблинги и 1 донор дете). В останалите случаи 69.4% (n=118), търсенето на потенциален донор е продължено при 69.5% (n=82) в BMDW, а при 30.5% (n=36) процедурата е прекратена на ниво фамилен донор.

1.2 UD (BMDW)

Освен при споменатите 82 реципиенти с несъвместим родствен донор, търсене в

световната база данни от UD е проведено за още 38 пациенти или общо 57.1% (n=120) от всички търсения. HLA напълно съвместим UD 10/10 е намерен за 51.7% (n=62). От реципиентите с несъвместим донор (n=58), UD с една антигенна/алелна HLA несъвместимост (9/10) е установен за 74.1 % (n=43), 8/10 HLA съвместим UD за 5.2% (n=3) и при 20.6% (n=12) няма намерен потенциален UD донор.

2. Влияние на HLA съвместимостта между реципиента и неговия донор за изхода от ало-ХСКТ

Средният период на проследяване на трансплантираните реципиенти беше 1 год. 3 мес. Отнесено към крайната дата на проучването (01.03.2014г.) 9 пациента (22%) са рецидивирали и при 7 пациента (17.0%) е регистрирана NRM. Остра GvHD (III-IV степен) бе доказана в 13 случаи (31.7%) и cGvHD (II-IV степен) в 13 (41.3%). При 11 от алотрансплантираните пациенти cGvHD не е анализирана - при шест поради по-къс от + 100 дни период на проследяване и при пет поради много кратка преживяемост след ало-СКТ (<100 дни, n=5, 13.2%).

Статистическият анализ на данните не показва значима зависимост определена от наличието на HLA несъвместимост в двойките за ало-ХСКТ за никое от крайните събития на проучването (OS, p=0.96; DFS, p=0.5; NRM, p=0.8; aGvHD, p=0.9, cGvHD, p=0.12). При разширения анализ на данните значима зависимост за изхода от ало-ХСКТ беше намерена единствено между регистрирането на cGvHD 2-4 степен и NRM, като същата тенденция бе наблюдавана и за OS, но не и DFS.

Таблица 2. Статистически значими фактори за изхода от ало-ХСКТ

фактор	n (брой загегнати)	събитие	HR	95% CI	p	ефект
cGvHD 2-4 степен	8	OS	4.2	0.9-21.0	0.055	рисков
cGvHD 2-4 степен	9	DFS	0.6	0.1-2.3	0.4	ns
cGvHD 2-4 степен	6	NRM	6.8	0.8-58.7	0.04	рисков

ОБСЪЖДАНЕ

С най-висока честота е търсенето на донор на ХСК за пациенти с ОМЛ/МДС (42%, n=89) и ОЛЛ (22%, n=46), което напълно съответства на приетите индикации за ало-ХСКТ [1] и възрастовата характеристика на изследваната група болни.

За даден пациент вероятността за наличие на генетично идентичен сиблинг е 25% за всеки сиблинг, докато вероятността за хаплогидентичност е 50%. Получените в настоящето проучване резултати за намиране на 10/10 HLA идентичен родственик първа линия са в съответствие с общоприетите Менделови закони за унаследяване, като установения малко по-висок процент от 30.6% може да се обясни с няколко обстоятелства: наличие на близко родствени бракове особено в изолирани етнически групи или ако и двамата родители споделят общ хаплотип и единият родител е хомозиготен носител.

Настоящите познания за честотата на разпространение на отделните HLA алели и хаплотипи позволяват определяне с голяма вероятност на възможността за намиране на 10/10 HLA съвместим UD в BMDW [18] като следните обстоятелства намаляват значително тази вероятност:

1. Носителство на редки HLA алели (<5% популационна честота, например B*4405).
2. Носителство на HLA-ABDR хаплотип, който не е от десетте най-чести хаплотипи за кавказката популация.
3. Носителство на необичайни B-DR асоциации (например B65-DRB1*0101).
4. Носителство на необичайни DR-DQ асоциации (например DRB1*1501-DQB1*0603).
5. Носителство на HLA антиген, който има >2 алелни варианти с популационна честота >10% (например B35, B44, DR4, DR11).
6. Носителство на B*2705, B18, B*4402, B*4403, B51 (висок риск от HLA-C несъвместимост).
7. По-малко от 3 налични потенциални UD в BMDW.

8. Различна етническа принадлежност на реципиента и потенциалните донори.

Установеният от нас процент 51.7% за намиране на 10/10 HLA съвместим UD напълно съответства на установената вероятност от 40-50% за пациентите от кавказката раса в Европа [18, 19]. Пълната невъзможността за намиране на UD от BMDW (>8/10 HLA несъвместимост) в 20.6% вероятно е асоциирано с една от описаните вече причини. От пациентите, при които е намерен 9/10 HLA съвместим UD (n=43), 20.9% са несъвместими по HLA-A, 11.6% по HLA-B, 27.9% по HLA-C, 20.9% HLA-DRB1 и 18.6% HLA-DQB1 съответно. Относителната значимост на отделните HLA локус несъвместимости все още е дискусабилен въпрос и ретроспективни проучвания са насочени към изясняване на тяхния ефект и изготвяне на модел на "приемлива/допустима" HLA несъвместимост [4-9].

В настоящето проучване изследването на значимостта на анализирания фактори за изхода от ало-ХСКТ показва статистически доказан негативен ефект единствено на cGvHD степен 2-4 за TRM и подобна тенденция за OS, но не и за DFS. Може да се заключи, че основна причина асоциирана с фатален край след ало-ХСКТ е развитието на тежка cGvHD, което е в съответствие с данни на Европейската асоциация за трансплантация на стволови клетки [20]. Противоположно на нашите резултати са тези от съвременни ретроспективни проучвания върху голям брой пациенти сочещи значима статистическа зависимост между наличието на HLA несъвместимост и OS, DFS и TRM [4-9]. В допълнение е установен адитивен ефект при увеличаване на броя на HLA несъвместимостите и различна сила на влияние с най-неблагоприятна прогноза при комбинирана несъвместимост в клас I и клас II HLA локус в сравнение с две несъвместимости от един клас [4]. Същевременно данните от независими проучвания показват различия в значимостта на анализирания HLA локуси в зависимост от етническата принадлежност [4-9]. Въпреки това относителния ефект на индивидуалните HLA локуси, както и въпросът за сигнификантност на антигенна vs. алелна несъвместимост все още не

е напълно изяснен. В проучване на 28 трансплантационни центрове в Германия върху 2646 трансплантирани болни е посочен значим неблагоприятен ефект на HLA-C антигенна несъвмест за DFS, като същата зависимост не е потвърдена при наличие на HLA-C алелна несъвместимост [4]. Докладваните различия в значимостта на HLA несъвместимостта за изхода от ало-ХСКТ в зависимост от нивото на несъвместимост, използвания донор, етническата принадлежност може да обяснят липсата на зависимост в нашето проучване. Много малкия брой изследвани, невъзможността за анализиране на групата реципиенти трансплантирани от UD и наличието само на три трансплантации от HLA ненапълно съвместим донор (<10/10 HLA), от които единият донор е сиблинг, налага разширяване на проучването с обособяване на отделна група ало-ХСКТ от UD и увеличаване периода на проследяване.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Въпреки противоречивите данни общоприет е алгоритъм за търсене на донор на алогенни ХСК:

Търсене на родствен донор:

1. 1. HLA-A/B/DR генотипизиране (генотипизиране на антигенно ниво) на пациента, наличните сиблинги и родителите за определяне на хаплотипното разпределение във фамилията.
2. 2. При наличие на 10/10 HLA съвместим сиблинг или хаплотипно съвместим донор и решение за включване в ало-ХСКТ провеждане на HLA потвърдително типизиране с нови кръвни проби.

3. Търсене на родствен донор:

4. 1. HLA генотипизиране на алелно ниво на реципиента.
5. 2. Търсене на налични потенциални UD в WBMD.
6. 3. При наличие на повече от един HLA идентични донори, избиране на мъжки пол, АВО кръвно-групова съвместимост и/или CMV-негативен донор.

7. 4. При липса на HLA подходящ UD и нужда от спешна ало-ХСКТ, търсене на единици пъпна връв (cord blood unit, CBU) с брой нуклеарни клетки $>2 \times 10^7/\text{кг.}$ и не повече от 2 HLA несъвместимости (4/6).
8. 5. При наличие на HLA приемлив UD/CBU и решение за включване в ало-ХСКТ провеждане на HLA потвърдително типизиране с нови кръвни проби.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Ljungman P, Urbano-Ispizua A, Cavazzana-Calvo M et al. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. *Bone Marrow Transplantation*, 2006; 37: 439-449
2. Petersdorf EW. Risk assessment in hematopoietic stem cell transplantation. *Best Pract Res Clin Haematol* 2007; 20: 155-170
3. <http://www.bmdw.org/>
4. Furst D., Muller C., Vucinic V. et al. High-resolution HLA matching in hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective collaborative analysis. *Blood*, 2013; 122: 3220-3229,
5. Lee S. J., Klein J., Haagenson M. et al., "High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation," *Blood*, 2007; 110: 4576-4583,
6. Morishima Y., Sasazuki T., Inoko H. et al., "The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors," *Blood*, 2002; 99: 4200-4206
7. Park M., Koh K. N., Kim B. E. et al. "The impact of HLA matching on unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation in Korean children," *Korean Journal of Hematology*, 2011; 46: 11-17
8. Petersdorf E. W., Gooley T. A., Anasetti C. et al., "Optimizing outcome after unrelated marrow transplantation by comprehensive matching of HLA class I and II alleles in the donor and recipient," *Blood*, 1998; 92: 3515-3520,
9. Flomenberg N., Baxter-Lowe L. A., Confer D. et al. "Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome," *Blood*, 2004; 104: 1923-1930
10. Kawase T., Morishima Y., Matsuo K. et al. "High-risk HLA allele mismatch combinations responsible for severe acute graft-versus-host disease and implication for its molecular mechanism," *Blood*, vol. 110, no. 7, pp. 2235-2241, 2007
11. Marsh G. E., Albert E. D., Bodmer W. F. et al. "Nomenclature for factors of the HLA system, 2010," *Tissue Antigens* 2010; 75:291-455

12. Erlich H. "HLA DNA typing: past, present, and future," *Tissue Antigens*, 2012; 80:1–11
13. Liao C., Wu J. Y., Xu Z. P et al. "Indiscernible benefit of high-resolution HLA typing in improving long-term clinical outcome of unrelated umbilical cord blood transplant," *Bone Marrow Transplantation*, 2007; 40: 201–208
14. Greinix H. T., Fa'è I., Schneider B. et al. "Impact of HLA class I high-resolution mismatches on chronic graft-versus-host disease and survival of patients given hematopoietic stem cell grafts from unrelated donors," *Bone Marrow Transplantation*, 2005; 35: 57–62
15. Hurley CK, Wagner JE, Setterholm MI, Confer DL. *Advances in HLA: Practical implications for selecting adult donors and cord blood units. Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12 (1 Suppl 1): 28-33.
16. Gratwohl A, Stern M, Brand R et al. European Group for Blood and Marrow Transplantation and the European Leukemia Net. Risk score for outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis. *Cancer* 2009;115(20):4715-4726
17. Filipovich A.H., Weisdorf D., Pavletic S., et al.: National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 945–956
18. Tiercy J-M, Nicoloso de Faveri G, Passweg J, et al. The probability to identify a 10/10 HLA allele-matched unrelated donor is highly predictable. *Bone Marrow Transplantation*, 2007; 40: 515-522
19. Tiercy J-M, Bujan-Lose M, Chapuis B, et al. Bone marrow transplantation with unrelated donors: What is the probability of identifying an HLA-B/Cw/DRB1/B3/B5/DQB1-matched donor? *Bone Marrow Transpl* 2000; 26: 437-441
20. <https://www.ebmt.org>

Водещ автор:

д-р Виктория Пламенова Върбанова

Адрес за кореспонденция:

д-р Виктория Върбанова

НСБАЛХЗ-София, ЕАД

ул. „Пловдивско поле“ №6

София 1156

тел: 0884674160

e-mail: v.varbanova@dir.bg

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА ПАЦИЕНТ С АНГИОИМУНОБЛАСТЕН Т - КЛЕТЪЧЕН ЛИМФОМ

В. Славчева¹, М. Генова³, М. Николова², Н. Цветков¹ С. Панайотова¹

Клиника по хематология, УМБАЛ- Плевен¹

Отделение по патологоанатомия, УМБАЛ -Плевен²

Лаборатория по хематопатология и имунология, НСБАЛ -София³

A CASE OF ANGIOIMMUNOBLASTIC T-CELL NON - HODGKIN' S LYMPHOMA

V. Slavcheva, M. Guenova, M. Nikolova, N. Tzvetkov, S. Panayotova

Hematology Clinic, University hospital for active treatment - Pleven

Patologoanatomy department, University hospital for active treatment - Pleven

Laboratory for Hematopathology and immunology, National Hospital of Active Treatment of Hematological Diseases, Sofia

Резюме. Ангиоимунобластния Т-клетъчен лимфом (AITL) е описан за първи път през 1970 г, като клиничен синдром, който се характеризира с генерализирана лимфаденопатия, хепатоспленомегалия, анемия и хипергаммаглобулинемия (Frizzera et Al, 1974 г.; Lukes & Tindle 1975 г.; Lennert, 1979) (1,3,4). Първоначално е считано за доброкачествено, премалигнено състояние (1). Според Световната Здравна Организация, през 2008г е включен в класификацията на лимфоидните неоплазии, като отделен вид на периферния Т- клетъчен лимфом (1, 3, 5, 6).

Ние представяме клиничен случай на пациентка с първоначална работна диагноза вирусен лимфаденит, базирана на имунохистохимични, серологични и клиниколабораторни изследвания. В рамките на пет месеца, след повторна ексцизионна шийна биопсия, имунохистохимия и повторна трепанобиопсия, бе прието че се касае за ангиоимунобластен Т- клетъчен лимфом.

Ключови думи: лимфом, лимфаденит, хипергаммаглобулинемия

Summary. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma was first described in 1970 as a clinical syndrome characterized by generalized lymphadenopathy, hepatosplenomegaly, anaemia and hyper-gammaglobulinaemia (1,3,4). At first it was considered to be benign, premalignant condition (1). According to the World Health Organisation, in 2008 it was included in the classification of lymphoid neoplasms as a separate type of periferal T- cell lymphoma (1, 3, 5, 6).

We introduce a clinical case of a patient with initial working diagnosis viral lymphadenitis, on the basis of immunohistochemistry, serological and clinical researches. Within five months, after a second excision biopsy, immunohistochemistry and repeated for the second time trephine biopsy it was accepted to be angioimmunoblastic T-cell lymphoma.

Key words: lymphoma, lymphadenitis, hypergammaglobulinemia

Въведение

Ангиоимунобластният Т-клетъчен лимфом е системно заболяване, ангажиращо лимфни възли, далак, черен дроб, костен мозък. Клинично се изявява с В- симптоми, кожен обрив, поликлонална хипергаммаглобулинемия, лимфаденомегалия,

хепатосплено-мегалия, анемия (2,4,5,9).

Ролята на вирусната инфекция и участието ѝ в патогенезата на заболяването все още се смята за неубедителна, въпреки че съществуват доклади за AITL асоцииран с Epstein Barr вирус, херпес вирус (HHV) -6, човешки имунодефицитен вирус (HIV) и

вируса на хепатит С (3,7,8,10).

Хистологичните особености са добре описани, но диагнозата често е предизвикателство, тъй като няма конкретни фенотипни или молекулярни маркери (4). Морфологичните промените в лимфните възли могат да се припокриват с разнообразие от реактивни и неопластични процеси: реактивна лимфаденопатия, мултицентрична форма на болестта на Кастелман, дифузен В- клетъчен лимфом и болест на Хочкин (2,3).

КЛИНИЧНО ПРЕДСТАВЯНЕ

Касае се за 52 годишна жена, хоспитализирана в хематологична клиника на УМБАЛ- Плевен за първи път през февруари 2012г. Насочена от МБАЛ- Ловеч, където е приета през януари 2012г, по повод на оплаквания от болки в гърлото при преглъщане, прогресивно нарастване на шийните лимфни възли, обрив ангажиращ шията и гръдния кош. Прието е, че се касае за инфекциозна мононуклеоза и е проведено лечение с широкоспектърен антибиотик, водносолеви разтвори и метилпреднизолон. Поради неповлияване на лимфаденомегалията е насочена към Хематологична клиника за диагностично уточняване и лечение.

От проведените рутинни лабораторни изследвания: пълна кръвна картина, левкограма и биохимия, при първата хоспитализация бяха установени : леко-степенен анемичен синдром (хемоглобин 111g/l), левкоцити 5,5G/l, неутрофили 4,4G/l, моноцити 0,1G/l, лимфоцити 0,9 G/l, тромбоцити 171G/l, завишени стойности на лактатдехидрогеназа - 599U/l, общ белтък 95g/l, при нормални стойности на серумно желязо, тотален желязосвързващ капацитет и останалите биохимични показатели. Осъществена бе трепанобиопсия, чрез която се изключи ангажиране на костния мозък от лимфопрлиферативно заболяване. Скенеграфското изследване на шия, медиастиnum, коремни органи и малък таз, документира генерализирана периферна лимфаденомегалия с максимални размери до 23/19мм и единична лезия в далака с размери 14,7/14,9мм. Без данни за хепатоспленомегалия. На 09.02.12 е осъществена ексцизионна биопсия на шиен лимфен възел и е поставена

патологоанатомична диагноза дифузен едроклетъчен В-лимфом центробластен тип. Резултатите от имунохистохимичното / ИХХ/ изследване на биопсичните материали и съответните диагнози са представени на таблица №1. Същият хистологичен материал беше ревизиран в Център по клинична патология Александровска болница и НСБАЛХЗ Лаборатория по хематология и имунология- София. Поставена бе диагнозата хиперплазия на лимфната тъкан (лимфаденит) EBV-асоциирана етиология (табл.№1) Дадена препоръка за консултация с инфекционист и серологично изследване. При суспекция за лимфопрлиферативно заболяване е уместно изследване на друг парафинов блок/ ребиопсия на увеличен лимфен възел.

Пациентката беше дехоспитализирана и насочена към Центъра по заразни и паразитни болести. През март е проведено серологично изследване за остра вирусна инфекция в НЦЗПБ- София и са установени положителни EBV – CA - IgM и EBV- CA- IgG. През април 2012 е хоспитализирана в КИПТБ–ВВМА-София с работна диагноза инфеинфекциозна мононуклеоза. При престоя в клиниката е проведен панел от серологични, микробиологични изследвания и PCR, отхвърлящи диагнозата инфекциозна мононуклеоза.

През юни 2012 г отново е хоспитализирана във ВМА-София отделение по ревматология, поради доказани автоантитела (anti-ds DNA- 51,7 U/ml) двукратно над нормата и уртикариален обрив, ангажиращ горната част на гръдния кош. Консултирана е с дерматолог и е прието, че кожните лезии са изява на медикаментозна алергия. Проведена е ехография на коремни органи, която установява: далак с увеличени размери 190: 68мм, увеличен лимфен възел в чернодробния хилус. На 04. 07. 12 е осъществена ексцизионна биопсия на шиен лимфен възел в ляво. Диагнозата е ангиоимунобластен Т-клетъчен неходжкинов лимфом (табл.1) .

ИХХ	Биопсия на шиен л.в. от 09.02.12.	Ревизия на биопсията от 09.02.12.	Биопсия на шиен л.в. от 04.07.12.
CD3	+ в интрафоликуларни и паракортикални Т Ly	+ в интрафоликуларни и паракортикални Т Ly	+ в почти 100% от клетъчния инфилтрат
CD5	Не е изследван	+ в интрафоликуларни и паракортикални Т Ly	+ в почти 100% от клетъчния инфилтрат
CD10	Не е изследван	- в герминативните центрове	+ в значителна част от интерфоликуларните зони.
CD15	Не е изследван	Не е изследван	+ в гранулоцити
CD20	+ във фоликулите и в атипични лимфоиди интерфоликуларно	+ във фоликуларни резиденти и единични интерфоликуларни Ly	+ в едри активирани Ly
CD21	Не е изследван	Не е изследван	+ във фоликулни дендритни клетки и в част от лимфоидния инфилтрат.
CD30	Не е изследван	Не е изследван	+ в малко разпръснати активирани лимфоиди.
CD43	Не е изследван	Не е изследван	+ в част от Т Ly и в хистиоцити
CD68	Не е изследван	+ във фоликулни дендритни клетки и макрофаги	+ в доста хистиоцити
CD79a	Не е изследван	Не е изследван	+ в малко резидуални В-лимфоцити
Ki 67	Не е изследван	Не е изследван	висока пролиферативна активност /в около 45% от лимфоидната популация/
Bcl 2	+ в интерфоликуларни атипични лимфоиди	- в герминативните центрове	Не е изследван
Bcl 6	Не е изследван	+ в герминативните центрове	+ хетерогенно в значителна част от интерфоликуларните зони.
Диагноза	Дифузен едроклетъчен В-лимфом центробластен тип.	Лимфаденит с EBV-асоциирана етиология.	Ангиоимунобластен Т-клетъчен лимфом.

таблица №1

През юли 2012, постъпва за втори път в клиниката с изразен консумативен синдром, фебрилитет до 38⁰, генерализирана лимфаденомегалия, уртикариален обрив по тялото, хепатоспленомегалия. От проведените лабораторни изследвания: Hg 110g/l, RBC 3,8T/l, WBC 16,7G/l, Plt 409G/l, Sg 79%, Mo 2%, Ly 19% Rett 15%. От биохимичните показатели общ белтък 127g/l, останалите в референтни граници. Имуноелектрофорезата на серум показва наличие на поликлонална хипергампатия, без парапротеин.

Директен тест на Кумбс /++++/, анти IgG/++++/, анти C/++/. Индиректен Кумбс-негативен. Скенеграфското изследване документира: лимфопролиферативен процес с шийна, аксиларна и ингвинална локализация. Хепатоспленомегалия на базата на изброените изследвания и проведена повторна трепанобиопсия, пациентката беше стадирана като IV клиничен стадий. Започната беше химиотерапия по схемата CHOEP (Endoxan, Epirubicin, Oncovin, Etoposid, Prednisolon).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описаният клиничен случай представлява диагностичен интерес от една страна поради факта че, заболяването не се среща често. В световен мащаб AITL представлява 20% от всички PTCLs и 2-5% от NHLs (5).

Изявява се с богатата палитра от симптоми и може да имитира инфекциозно, алергично, съединителнотъканно или друго злокачествено заболяване. От друга страна морфологичните промени в лимфните възли представляват уникална смесица от клетъчни типове. Арбитражно значение при имунохистохимичното изследване се отдава на допълнителната експресия на CD10 от Т-лимфоцитите (4,5,9). В представения от нас случай при първата биопсия през февруари, маркерът е бил негативен и е позитивиран 5 месеца по-късно, след проведена повторна биопсия.

Открити остават и въпросите за ролята на вирусната инфекция в патогенезата на заболяването, и кои са причините в някои от случаите имунната система да се самоограничи в отговора на антигенен дразнител, а в други случаи да реагира неконтролируемо, с оформяне на неопластичен клон.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Arshad N, Ahsanuddin1, Russell K et al. Peripheral blood polyclonal plasmacytosis mimicking plasma cell leukemia in patients with angioimmunoblastic T-cell lymphoma: report of 3 cases and review of the literature. *Int J Clin Exp Pathol* 2011;4(4):416-420
2. Young-Uk Cho, Hyun-Sook Chi, Chan-Jeoung Park et al Distinct features of angioimmunoblastic T-Cell lymphoma with bone marrow involvement. *Am J Clin Pathol* 2009; 131:640-646.
3. Ahmet Dogan, Ayoma D, Chara Kyriakou. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *British Journal of Haematology*. 2003; 121: 681–691.
4. Ayoma Attygalle, Rajai Al-Jehani, Tim C. Diss et al. Neoplastic T cells in angioimmuno- blastic T-cell lymphoma express CD10. *Blood*. 2002; 99: 627-33.
5. Ash A. Alizadeh, Ranjana A. Evaluation and managment of angioimmunoblastic T- cell lymphoma. *Clinical advances in Hematology & Oncology*. 2008; 6:12
6. Tiffany Tang, Kevin Tay, Richard Quek et al. Peripheral T-cell Lymphoma: Review and update of current management strategies. *Advances in Hematology*. 2012: 624040
7. Zettl A, Lee S, Rüdiger T et al. Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoproliferative disorders in angioimmunoblastic T-cell lymphoma and peripheral T-cell lymphoma, unspecified. *Am J Clin Pathol*. 2002; 117(3):368-79.

8. Luppi M, Torelli G. The new lymphotropic herpesviruses (HHV-6, HHV-7, HHV-8) and hepatitis C virus (HCV) in human lymphoproliferative diseases: an overview *Haematologica*. 1996 ;81(3):265-81.
9. Nathalie Mourad, Nicolas Mounier, Josette Brière et al. Clinical, biologic, and pathologic features in 157 patients with angioimmunoblastic T-cell lymphoma treated within the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA) trials *Blood* 2008 111: 4463-4470
10. Brown HA, Macon WR, Kurtin PJ, Gibson LE. Cutaneous involvment by angioimmunoblastic T-cell lymphoma with remarkable heterogeneous Epstein-Barr virus expression. *J Cutan Pathol*. 2001;28(8):432-8.

Адрес за кореспонденция:
Ваня Славчева

Клиника по хематология
УМБАЛ „Георги Странски“
бул „Г.Кочев“ 8А
Плевен 5800

E-mail: slavcheva05@gmail.com

ПРИЛАГАНЕ НА НИСКОМОЛЕКУЛНИ ХЕПАРИНИ И АЛОГЕННИ ХЕМОТРАНСФУЗИИ - ПРОУЧВАНЕ НА ТРАНСФУЗИОННИТЕ ТРИГЕРИ ЗА ПРЕВЕНЦИЯ НА ВЕНОЗНИЯТ ТРОМБОЕМБОЛИЗЪМ ПРИ ПЛАНОВА ОТВОРЕНА КОЛОРЕКТАЛНА ОНКОХИРУРГИЯ В БОЛНИЧНИ УСЛОВИЯ

Доц. Д-р Д. Тонев д.м.¹, Доц. Д-р И. Груев, д.м.² Д-р Е. Алексиев¹, Д-р И. Иванов¹, Д-р С. Пернишки³, Д-р М. Таджер³

1- НМТБ "Цар Борис III" ОАИЛ, 2- Клиника по кардиология, 3-Хирургично отделение.

APPLICATION OF LOW MOLECULAR WEIGHT HEPARIN AND ALLOGENIC HEMOTRANSFUSIONS - A STUDY OF HEMOTRANSFUSION TRIGGERS FOR PREVENTION OF VENOUS THROMBOEMBOLISM IN ELECTIVE OPEN ONCOLOGIC COLORECTAL SURGERY

Assoc. Prof. D. Tonev MD, PhD, Assoc. Prof. I. Gruev MD, PhD, Dr. E. Alexiev, Dr I. Ivanov, Dr S. Pernishki, Dr M. Tadger.

1-NMTH "Tsar Boris III" Sofia Bulgaria, 2-Cardiology Clinic, 3-Surgery department

Резюме. Колоректалната онкохирургия крие повишен риск от венозен тромбоемболизъм (VTE). От друга страна, онкохирургията по принцип и колоректалната онкохирургия в частност, са асоциирани с висок риск от хирургично кървене и налагат провеждането на алогенни хемотрансфузии. Целта на настоящото проучване е да установи на фона на тромبوпрофилактика с нискомолекулни хепарини (LMWH) приложимостта на рестриктивна, респективно на селективна трансфузионна стратегия за превенция на VTE при планова отворена колоректална онкохирургия. Резултатите показаха, че: налагането на алогенни хемотрансфузии на фона на тромبوпрофилактика с LMWH при отворена колоректалната онкохирургия изисква по-скоро балансиран, отколкото рестриктивен трансфузионен подход. Подход, който е съобразен най-вече с ползата/риска от кървене/VTE, а не с пола на болните.

Ключови думи: колоректална хирургия, тромبوпрофилактика, хемотрансфузия.

Summary. Colorectal oncologic surgery increases the risk of venous thromboembolism (VTE). On the other side, that kind of surgery is often associated with high risk of bleeding and hemotransfusions. The aim of our study was to find, on the background of low molecular weight heparin (LMWH) thromboprophylaxis, the usefulness of restrictive or selective strategy of hemotransfusion for prevention of VTE in elective open colorectal oncologic surgery. Our results showed that decisions for hemotransfusions on the background of LMWH thromboprophylaxis have to be balanced, rather than restrictive. We should make risk-benefit analysis for bleeding/VTE. The gender of the patient should not influence the decision making.

Key words: Colorectal surgery, thromboprophylaxis, hemotransfusion

УВОД

Колоректалната онкохирургия крие повишен риск от венозен тромбоемболизъм (VTE). При онкологично болните рискът от възникване на VTE нараства 7-кратно в сравнение с неонкологичните пациенти.¹ Без тромبوпрофилактика очакваната честота на дълбока венозна тромбоза (DVT) е 40-80%.² При прилагане на тромبوпрофилактика при колоректална онкохирургия очакваната честота на DVT (изявена или не клинично) е около 30% спрямо 20% при общата хирургия.²

Т.е. прилагането на тромبوпрофилактика е императив!

Прилагането на тромبوпрофилактика с нискомолекулни хепарини (LMWH) продължава ≥ 4 седмици следоперативно. Високите дози ≥ 3400 anti-Xa U/d осигурява по-добра протекция от ниските дози. При бъбречна недостатъчност с креатининов клирънс < 30 ml/min не се препоръчва прилагането на LMWH, т.е. преди профилактиката задължително изследваме серумния Creatinine. При профилактиката

> 4 дни проверяваме стойностите на тромбоцитите в кръвта за хепарин-индуцирана тромбоцитопения.³

От друга страна, онкохирургията по принцип и колоректалната онкохирургия в частност са асоциирани с висок риск от хирургично кървене. Най-често при онкохирургични операции на фона на провежданата тромбопрофилактика се наблюдава кървене в рамките на първите 10 следоперативни дни. При извършването на радикални, респективно разширени отворени колоректални онкохирургични операции (напр. разширени лимфни дисекции, блокрезекции и пр.) има риск от значителна кръвозагуба и в тези случаи е наложително провеждането на хемотрансфузии.⁴

Алогенните хемотрансфузии имат и редица неблагоприятни ефекти. Според наскоро проведен мета-анализ на 55 проучвания включващ 20,795 болни, сигнификантно нарастват рисковете от смърт, следоперативни инфекции и други нежелани клинични резултати (като удължен болничен престой, рецидиви, реоперации) сред болните претърпяли колоректална онкохирургия и получили периоперативно алогенни хемотрансфузии.⁵ Друго скорошно мащабно проучване в САЩ върху 38,926 болни, претърпяли онкохирургия потвърждава сред всички възрастови групи и лица с нисък до нормален Ht, че интраоперативната трансфузия води до нарастване на 30-дневния оперативен морталитет, на големите усложнения, на общия брой усложнения и на болничния престой.⁶ Препоръчва се рестриктивна трансфузионна стратегия за редуциране на риска, свързан с алогенните хемотрансфузии.⁷ Все по-актуален става и въпросът за връзката между алогенните

хемотрансфузии и VTE. Nilsson KR et al. проучват ретроспективно 14,014 болни претърпели колоректална онкохирургия с цел да установи взаимовръзката между проведените периоперативно алогенни хемотрансфузии и диагностицираният VTE според наличните база-данни от изписването. Установен е 1% VTE който води до 4-кратно нарастване на морталитета, 61% нарастване на средния престой в болницата

и до 72% нарастване на болничните разходи, резултати ясно очертаващи важността на проблема. От тези проучени база-данни не е установено прилагана ли е или не тромбопрофилактика на болните. Най-впечатляващо от гледна точка на възможността за селективен подход при хемотрансфузиите е, че алогенните хемотрансфузии са свързани с 1.8 пъти по-висок риск от VTE при жените, но не и при мъжете.⁸

ЦЕЛ НА ПРОУЧВАНЕТО

Целта на настоящото проучване е да установи на фона на тромбопрофилактика с LMWH приложимостта на рестриктивна, респективно на селективна трансфузионна стратегия за превенция на VTE при планова отворена колоректална онкохирургия в нашите болнични условия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

За период от 2 години в НМТБ "Цар Борис III" **ретроспективно** са проучени **общо 40 болни**, претърпяли **41** планови отворени **колоректални онкооперации**. От тях 21 мъже и 19 жени на възраст $62,8 \pm 11,7$ години, респективно $64,9 \pm 11,8$ години. Всички търсени сравнения по полов признак са считани за междугрупови сравнения.

Всички болни са получили периоперативна тромбопрофилактика със субкутанно прилагане на LMWH, в дозировка, съобразена както с телесното тегло, така и с риска от кървене/VTE. Начална апликация с LMWH е извършвана на 12 до 24 час предоперативно с последващо рестартиране на 6 до 72 час следоперативно в зависимост от риска от кървене. Тромбопрофилактиката е с продължителност ≥ 4 седмици.

Не е уточняван в писмен вид неизменен/твърд "трансфузионен тригер" – т.е. всеки болен е преценяван строго индивидуално за нуждата от усиление на кислородо-транспортния капацитет на кръвта чрез прилагане на алогенни хемотрансфузии.

Проведените хемотрансфузии са регистрирани в писмен вид в ИЗ на болния от отговорните за лечението хирург, анестезиолог, респективно лекуващ лекар. Верността на записите е повторно контролирана чрез сравнение с наличните

данни от трансфузионните протоколи и журнали и от анестезиологичните и реанимационни листове на болните.

Наличните данни отразяват количествено, като брой единици алогенен еритроцитен концентрат (Er.c.) в ml, проведените хемотрансфузии само за вътреболничният престой на болните.

Регистрирани са следните променливи от значение за проучването:

- Възраст, пол;
- American Society of Anesthesiology (ASA) оценка на физическия статус;
- Изходни стойности на Хемоглобин (Hb), Хематокрит (Ht), Creatinine;
- Вид и обем на операцията;
- Времетраене на операцията;
- Прелятото количество Er. c. в ml;
- Документирани случаи на VTE, респективно на голямо (клинично значимо) кървене наложило ре-операция.

СТАТИСТИЧЕСКИ АНАЛИЗ

Категорийните данни са сравнени с χ^2

тест (с точна корекция на Fisher когато е необходимо), респективно Mann-Whitney U-тест, а количествените непрекъснати променливи с Independent Samples t-тест на Student и Pearson's correlation, при $\alpha = 0.05$. Данните са представени като числа (n), %-ти и средни аритметични стойности $\pm$ стандартни отклонения (SD), както и като изчислени стойности на корелационни коефициенти (r).

РЕЗУЛТАТИ

Двата пола са съпоставими по отношение на изходните демографски, клинични и лабораторни характеристики с изключение на изходните стойности на хематокрита (Htc) (мъже > жени, $p = 0.035$).

Средните стойности на Hb както за мъжете, така и за жените изключват наличието на предоперативна анемия (по дефиниция на СЗО няма анемия при $Hb \geq$ на 130 g/l за мъжете и при $Hb \geq$ 120 g/l за жените).

Данните са представени на таблица 1.

	Пол		p
	Мъже (n=21)	Жени* (n=20)	
Възраст (год)	62,8 $\pm$ 11,7	64,9 $\pm$ 11,8	0.564
Hb (g/l)	134,6 $\pm$ 27,2	122,7 $\pm$ 18,6	0.103
Ht	0,40 $\pm$ 0,07	0,35 $\pm$ 0,07	0.035
Creatinine (μ mol/l)	84,3 $\pm$ 30,0	74,4 $\pm$ 15,5	0.193
ASA физически статус (II/III/IV)	12/7/2	8/9/3	0.611

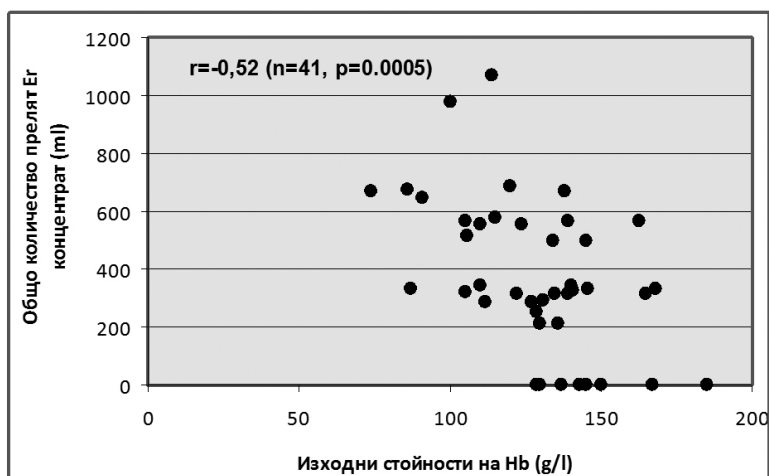
Таблица 1. Изходни демографски, лабораторни и клинични характеристики (*броят на жените е 19, но една жена е реоперирана)

Количеството прелят еритроцитен концентрат (Er.c.) в ml е в пряка зависимост от:

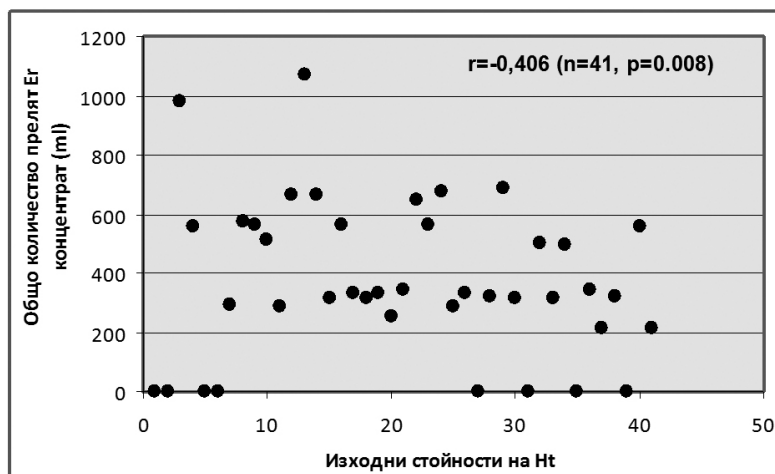
- Изходните стойности на Hb (отрицателна значителна корелационна зависимост, $r = - 0.520$, $p = 0.005$).

- Изходните стойности на Htc (отрицателна умерена корелационна зависимост, $r = - 0.406$, $p = 0.008$).
- Времетраенето на операцията (положителна умерена корелационна зависимост, $r = 0.354$, $p = 0.023$).

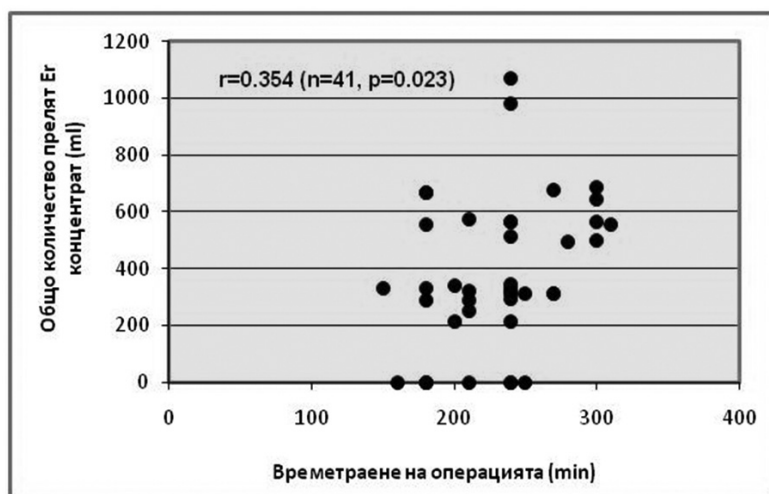
Данните са представени на фигура 1, фигура 2 и фигура 3.



Фигура 1. Сила на линейната корелация r (Pearson's correlation) между общото количество прелят Ер концентрат (ml) и изходните стойности на Hb (g/l)



Фигура 2. Сила на линейната корелация r (Pearson's correlation) между общото количество прелят Ер концентрат (ml) и изходните стойности на Ht



Фигура 3. Сила на линейната корелация r (Pearson's correlation) между общото количество прелят Ер концентрат (ml) и времетраенето на операцията (min)

Прилагането (n = 33) или неприлагането (n = 8) на алогенни хемотрансфузии не се повлиява от различията в пола, възрастта, изходните Creatinine, ASA физическият статус или от времетраенето на операцията, а отново от изходните Hb (p = 0.008) и Ht (p = 0.020).

Въпреки липсата на сигнификантност има тенденция получените хемотрансфузии да са с по-дълготрайно време на операцията от неполучилите хемотрансфузии (p = 0.062).

Данните са представени на таблица 3.

	Трансфузия на Eг концентрация		p
	Да (n=33)	Не (n=8)	
Пол (мъже/жени*)	15/18	6/2	0,238
Възраст (год)	65,1±10,8	58,6±14,5	0,165
Hb (g/l)	123,8±22,7	148,3±19,2	0,008
Ht	0,36±0,07	0,43±0,06	0,020
Creatinine (μmol/l)	80,5±26,1	75,5±15,1	0,610
ASA физически статус (II/III/IV)	15/13/5	5/3/0	0,560
Времетраене на операцията (min)	235,8±41,8	205,0±34,6	0,062

Таблица 3. Сравнителна оценка между получените (да) и неполучилине (не) трансфузия на Eг концентрат (*броят на жените е 19, но една жена е реоперирана)

От всички болни само при една жена на 54 год. се налага реоперация поради голямо, клинично значимо кървене, с изходни стойности преди реоперацията на Hb 74 g/l и на Ht 0.23 и преляти общо за престоя и в болницата 1735 ml алогенен Eг концентрат (7 единици кръв).

От проверените налични данни на проучените 40 болни няма документиран случай на диагностицирани DVT, респективно на VTE.

ОБСЪЖДАНЕ

Nilsson KR et al. проучват ретроспективно 14,014 болни претърпяли колоректална онкохирургия с цел да установят взаимовръзката между проведените периоперативно алогенни хемотрансфузии и диагностицирания VTE и намират в 1% от случаите VTE без да могат да установят прилагана ли е или не тромбoproфилактика на болните.⁸

Leonardi MJ et al. провеждат мета-анализ на 33 проучвания, включващи 33,813 болни претърпяли големи коремни операции с проведена тромбoproфилактика (ниски v.s високи дози UFH и LMWH) и установяват в 0.7% от случаите реоперация за голямо, клинично значимо кървене.⁹

Нашите резултати са съпоставими с тези на Nilsson KR et al.⁸ и относително съпоставими с тези на Leonardi MJ et al.⁹ От 40 болни, претърпели колоректална онкохирургия, имаме в 0% от случаите VTE (на фона на тромбoproфилактика с LMWH) и в 2.5% от случаите голямо кървене наложило реоперация.

От споменатото по-горе проучване на Nilsson KR et al. е установено, че само 2766 болни (20%) са получили алогенни хемотрансфузии.⁸

Al-Refaie WB et al. проучват трансфузионната практика при 38,926 болни претърпяли онкохирургия и установяват, че повече от

60% от случаите болните са получили само една или две единици кръв.⁶

Нашите резултати се противоположни на тези на Nilsson KR et al.⁸ и са относително съпоставими с тези на Al-Refaie WB et al.⁶ От 40 болни претърпели колоректална онкохирургия, само в 20% от случаите сме се въздържали от алогенни хемотрансфузии, т.е. имаме 4-кратно повече хемотрансфузии (на фона на тромбопрофилактика) и в 76% от случаите болните са получили една или две единици кръв.

European Society of Anaesthesiology препоръчва като трансфузионни тригери една таргетна Hb концентрация от 7-9 g/l при активно кървене.⁷

Най-нов Cochrane систематичен преглед на 19 проучвания установи, че по-ниският трансфузионен тригер намалява рискът свързан с преливане на Er.c. с 39%, а средният абсолютен риск намалява с 34%.¹⁰

Рестриктивната стратегия (поддържане Hb 7-9 g/l) в сравнение с либералната (поддържане Hb 10-12 g/l) обаче, не изглежда да влияе на честотата на неблагоприятните събития (морталитет, сърдечни неблагоприятни събития, миокарден инфаркт, мозъчен инсулт, пневмония, тромбоемболизъм).¹⁰

Рестриктивната стратегия се асоциира със сигнификантно намаляване на болничния морталитет, но не и на 30-дневния морталитет. Тя не намалява функционалното възстановяване, престоя в интензивното отделение и вътреболничния престой. Няма доказателства за ефекта на рестриктивните тригери при високорискови групи (напр. болни с остър коронарен синдром).¹¹

Wu W-C et al. намират при 310,311 ветерани (≥ 65 г.) претърпели несърдечна хирургия (вкл. колоректална), за всеки 1% отклонение на Ht от нормалния обхват увеличаване на морталитета с 1.9% за болни > 75 год., с 1.7% за болни с ХОББ, с 1% за болни с бъбречно заболяване, с 0.4% за болни с коронарно заболяване, 0.8% при обща хирургия и 0.1% при спешна операция. Отклоненията в Ht при жените не повишават 30-дневния морталитет.¹²

Beattie WS et al. в проучване върху 7,759 болни (≥ 18 г.) установяват еднакво разпространение на предоперативната

анемия мъжду мъжете и жените. При наличие на анемия 5-кратно нараства следоперативният морталитет (90-дневен). След корекция с предоперативният морбидитет при предоперативна анемия рискът от вътреболнична смъртност нараства 3-кратно. Налице е връзка между анемията и морталитета както при мъжете, така и при жените (т.е. двата пола са еднакво нетолерантни към анемия).¹³

Sweetland S, et al. установяват в голямо кохортно проспективно проучване (т.нар. "The Million Women Study"), че при оперираните в болнични условия жени рискът от VTE нараства до 70-кратно през първите 12 седмици след операцията. При онкооперирани жени стандартизираната честота на VTE на 12-та седмица е 4.3 на 1000 пациенто месеци.¹⁴

Buchberg B, et al. в ретроспективно проучване върху 149,304 болни претърпели колоректална хирургия установяват, че честотата на VTE при лапароскопските колоректални резекции е сигнификантно по-ниска от тази при отворените колоректални резекции (0.83% v.s. 1.44%, $p < 0.001$).¹⁵

Малкият обем на извадката, ретроспективният характер на сравненията (недаващ възможност за 12-сед. проследяване) и липсата на сравнима група с лапароскопски колоректални резекции са ограниченията в настоящето проучване, влияещи върху честотата на VTE.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Решението за хемотрансфузия се основава на информация за:

- Сърдечносъдовия статус;
- Оперативната кръвозагуба;
- Предоперативните Hb и Ht – основни трансфузионни тригери пряко влияещи върху морбидитета и морталитета на болните;
- Индивидуалния подход при решение за хемотрансфузия е съобразен с:
- Предоперативен ко-морбидитет на болния;
- Изборът на *оперативна техника*, съобразена с авансирането на злокачественият процес, анатомичната му локализация, техническата обезпеченост. Рисков фактор за

компрометиране на дебелочревните анастомози е наличието на некомпенсиран анемичен синдром ($Hb < 9.4 \text{ g/l}$).¹¹

При налагането на алогенни хемотрансфузии на фона на тромбoproфилактика с LMWH при колоректалната онкохирургия изисква по-скоро балансиран, отколкото рестриктивен трансфузионен подход. Подход, който е съобразен най-вече с ползата/риска от кръвене/VTE, а не с пола на болните.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Blom JW, Doggen CJ, Osanto S, et al. Malignancies, prothrombotic mutations, and the risk of venous thrombosis. *JAMA* 2005; 293:715-22
2. McLeod RS, Geerts WH, Sniderman KW, et al. Subcutaneous heparin versus low-molecular weight heparin as thromboprophylaxis in patients undergoing colorectal surgery. *Ann Surg* 2001; 233(3):438-44
3. Agnelli G. Prevention of venous thromboembolism in surgical patients. *Circulation* 2004; 110; IV4-IV12
4. Simonneau G, Laporte S, Mismetti P, et al. A randomized study comparing the efficacy and safety of nadroparin 2850 IU (0.3 ml) vs. enoxaparin 4000 IU (40 mg) in the prevention of venous thromboembolism after colorectal surgery for cancer. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 1693-1700
5. Acheson AG, Brooks MJ, Spahn DR. Effects of allogenic red blood cell transfusions on clinical outcomes in patients undergoing colorectal cancer surgery: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg* 2012; 256(2): 235-44
6. Al-Refaie WB, Parsons HM, Markin A, et al. Blood transfusion and cancer surgery outcomes: a continued reason for concern. *Surgery* 2012; 152(3): 344-54
7. Kozek-Langenecker SA, Afshari A, Albaladejo P, et al. Management of severe perioperative bleeding. Guidelines from the European Society of Anaesthesiology. *Eur J Anaesthesiol* 2013; 30: 270-382
8. Nilsson KR, Berenholtz SM, Garrett-Mayer E, et al. Association between venous thromboembolism and perioperative allogenic transfusion. *Arch Surg* 2007; 142(2): 126-1
9. Leonardi MJ, McGory ML, Ko CY. The rate of bleeding complications after pharmacologic deep vein thrombosis prophylaxis: a systematic review of 33 randomized control trials. *Arch Surg* 2006; 141(8): 790-9
9. Carson JL, Carless PA, Herbert PC. Transfusion thresholds and other strategies for guiding allogenic red blood cell transfusion. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; (4):CD002042
10. Patel S, Lutz JM, Panchagnula U, Bansar S. Anesthesia and perioperative management of colorectal surgical patients – specific issues (part 2). *J Anesthesiol Clin Pharmacol* 2012; 28:304-13
11. Wu W-C, Schiffner TL, Henderson WG, et al. Preoperative hematocrit levels and postoperative outcomes in older patients undergoing noncardiac surgery. *JAMA* 2007; 297: 2481-88
12. Beattie WS, Karkouti K, Wijesundera DN, Tait G. Risk associated with preoperative anemia in noncardiac surgery. *Anesthesiology* 2009; 110: 574-81
13. Sweetland S, Green J, Liu B, et al. Duration and magnitude of the postoperative risk of venous thromboembolism in middle aged women: prospective cohort study. *BMJ* 2009; 339: b4583
14. Buchberg B, Masoomi H, Lusby K, et al. Incidence and risk factors of venous thromboembolism in colorectal surgery. *Arch Surg* 2011; 46(6): 739-43

Адрес за кореспонденция:

София 1233, бул. „Мария Луиза“ 108,
НМТБ „Цар Борис III“ Доц. Димитър Тонев
e-mail: dgtsofia@abv.bg

ЦИТОГЕНЕТИЧЕН ПРОФИЛ И ИЗХОД ПРИ ПАЦИЕНТИ С ВТОРИЧНИ СВЪРЗАНИ С ТЕРАПИЯ МИЕЛОДИСПЛАЗИЯ И ОСТРА ЛЕВКЕМИЯ

И. Мичева¹, Вл. Геров¹, Р. Рачев¹, М. Мехмед¹, Л. Ангелова², Ц. Русева², Л. Герчева¹

Клиника по Хематология, УМБАЛ "Света Марина", Варна

Лаборатория по Цитогенетика и Молекулярна биология, УМБАЛ "Света Марина", Варна

CYTOGENETIC PROFILE AND OUTCOME OF PATIENTS WITH THERAPY-RELATED MYELODYSPLASIA AND THERAPY-RELATED LEUKEMIA

I. Micheva, Vl. Gerov, R. Rachev, M. Mehmed, L. Angelova, C. Ruseva, L. Gercheva

Clinic of Hematology, UMHAT "Sveta Marina", Varna

Laboratory of Cytogenetics and Molecular Biology, UMHAT "Sveta Marina", Varna

Резюме. Вторичният свързан с терапия миелодиспластичен синдром/остра миелоидна левкемия (т-МДС/ОМЛ) е състояние, което се появява след лечение на някои първични неоплазии като Болест на Хочкин, Нехочкинови лимфоми, саркоми, рак на гърдата, яйчников и тестикуларен карцином. Често изходът при т-МДС/ОМЛ е неблагоприятен в сравнение с de novo ОМЛ. Т-МДС/ОМЛ се характеризира с определени хромозомни аберации, често комплексен кариотип. В настоящото проучване анализирахме пациенти с МДС и ОМЛ, развили се след химио- и/или лъчетерапия по повод първична неоплазия. Включени са 13 пациента, диагностицирани и лекувани в Клиниката по Хематология, МБАЛ "Св. Марина" в периода 2005-2013 година; 12 жени и 1 мъж с медиана на възрастта 67 години; 7 след рак на гърдата, 2 след овариален карцином, 1 след Болест на Хочкин, 1 след тиреоиден карцином, 1 след рак на ендометриум, 1 след спиноцелуларен карцином на устна. Медианата на латентния период от конвенционалната терапия до развитие на т-МДС/ОМЛ е 10 години (от 2 до 25 години). Пет от случаите са диагностицирани като МДС, а 8 като ОМЛ. Цитогенетичното изследване показва нормален кариотип при 4 от случаите, комплексен кариотип при 7 и del5q при един. Най-често повтарящите се аберации са del 5q, аномалии на 22 хромозома, монозомия 7. Пациентите са лекувани с ниски дози цитозар, хидроксурея, 7+3, EMA, FLAG, Ida FLAG, GMALL. В нито един от случаите не е постигната ремисия. Медианата на преживяемостта е 4,5 месеца (0,5-8 месеца). Нашите резултати показват, че пациентите с т-МДС/ОМЛ имат неблагоприятен цитогенетичен профил, който определя и крайно неблагоприятния изход при тази група болни.

Ключови думи: вторична миелодисплазия, вторична левкемия, химиотерапия, цитогенетичен профил

Summary. Therapy-related myelodysplasia and therapy-related leukemia (tMDS/AML) is a condition that appears after treatment of several primary cancers, such as Hodgkin's lymphoma (HL), non-Hodgkin's lymphoma (NHL); sarcomas; breast, ovarian, and testicular cancers. T-MDS/AML is often associated with adverse outcome, compared to de novo AML. T-MDS/AML is characterized by distinct chromosomal changes. We analyzed the characteristics and outcome of AML and MDS patients with prior history of cancer treated with chemotherapy or/and radiation. A total of 13 patients with t-MDS/AML were recorded for the period 2005-2013, 12 female and 1 male with median age of 67 years; 7 after breast cancer, 2 after ovarian cancer, 1 HL, 1 thyroid cancer, 1 endometrial cancer and 1 spinocellular carcinoma. The median time from conventional chemotherapy was 10 years (2-25 years). Five cases were diagnosed with MDS, 8 cases were diagnosed with AML. The cytogenetic study revealed normal karyotype in 4 cases, complex karyotype in 7 cases, del5q in one case. The most commonly seen aberration was del5q, anomalies of 22 chromosome, monosomy 7. The patients were treated with low dose cytarabine, hydroxycarbamide, 7+3, EMA, FLAG, Ida FLAG, GMALL. No remission was registered in the whole group. The median survival was 4,5 months (from 0,5 to 8 months). Our results demonstrate that most of the patients with t-MDS/AML have unfavorable cytogenetic profile that predicts poor prognosis and outcome.

Keywords: secondary myelodysplasia, secondary leukemia, chemotherapy, cytogenetics

ВЪВЕДЕНИЕ

Вторичният свързан с терапия МДС/ОМЛ е състояние, което се появява след лечение на някои първични карциноми като Болест на Хочкин, нехочкинови лимфоми, остра лимфобластна левкемия, саркоми, рак на гърдата, яйчников и тестикуларен карцином. Т-МДС/ОМЛ е основна причина за несвързаната с релапс смъртност при пациенти с Хочкинов и Нехочкинов лимфом, лекувани с високодозова терапия (1). Честотата на т-МДС/ОМЛ варира от 2% 15 години след конвенционална терапия с алкилиращи агенти, до 12,8% 15 години след автоложна стволовоклътъчна трансплантация (2). Т-МДС/ОМЛ са асоциирани с приложение на алкилиращи агенти и инхибитори на топоизомеразата II. Рискът след лъчетерапия е значително по-нисък в сравнение с приложението на тези агенти. Според СЗО са определени два типа т-МДС/ОМЛ според вида на провежданата химиотерапия: т-МДС/ОМЛ свързан с алкилиращи агенти/лъчетерапия с латентен период 5-7 години и често предхождаща диспластична фаза и т-МДС/ОМЛ свързан с топоизомеразата II инхибитори с латентен период 1-3 години без диспластична фаза (3). Двата типа т-МДС/ОМЛ се асоциират с определени хромозомни аберации, често в контекста на комплексен кариотип. Алкилиращите агенти (АА) асоциирани с т-МДС/ОМЛ включват циклофосфамид, ифосфамид, мехлоретамин, мелфалан, бусульфамид, нитрозурей, хлорамбуцил, дакарбазин, платина. Мутагенният им ефект е свързан със способността на АА да образуват крослинк или да трансферират алкилни групи с формиране на ДНК моноадукти. АА- т-МДС/ОМЛ е асоцииран с аномалии включващи хромозома 5 (-5/del5q) и 7 (-7/del7q) и висока честота на MRD фенотип. АА- т-МДС/ОМЛ е рефрактерен на терапия със средна преживяемост 5 месеца (4). Топоизомеразата II инхибиторите стабилизират ензим-ДНК ковалентни връзки, и предизвикват хромозомна чупливост. Възстановяването на хромозомната увреда може да доведе до транслокации, свързани с левкемогенеза. Топоизомеразата II т-МДС/

ОМЛ се представя като de novo левкемия обикновено след латентен период от 6 месеца до 3 години и е свързан с балансирани транслокации, включващи 11q23 или 21q22 (2). Други възможни транслокации са inv(18) (p13q22), t(17, 19)(q22;q12), inv(16), t(15;17), t(9;22) (5, 6).

Често изходът при т-МДС/ОМЛ е неблагоприятен в сравнение с de novo ОМЛ. Няма стандартна терапия за т-МДС/ОМЛ. Използвани са различни химиотерапевтични режими-от агресивна химиотерапия, целяща излекуване и алогенна стволовоклътъчна трансплантация до нискодозова химиотерапия и различни режими за преодоляване на резистентността, характерна за тези синдроми (3).

В настоящото проучване анализирахме цитогенетичния профил и изхода при пациенти с МДС или остра левкемия (ОЛ), развили се след химиотерапия с или без лъчелечение по повод първичен карцином.

ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ

Включени са 13 пациента с т-МДС/ОМЛ, диагностицирани и лекувани в Клиниката по Хематология, МБАЛ "Св. Марина" в периода 2005-2013 година, 12 жени и 1 мъж с медиана на възрастта 67 години. Седем от пациентите са развили т-МДС/ОМЛ след лечение по повод рак на гърдата, 2 след овариален карцином, 1 след Болест на Хочкин, 1 след тиреоиден карцином, 1 след рак на ендометриум, 1 след спиноцелуларен карцином на устна. Терапията използвана при лечение на първичната неоплазия е представена в Табл.1.

Табл. 1. Химиотерапия при първичната неоплазия

Рак на гърда	EC, FEC, paclitaxel+doxorubicin
Овариален карцином	paclitaxel+carboplatin
Карцином на ендометриума	doxorubicin+cisplatin
Тиреоиден карцином	doxorubicin+cisplatin
Болест на Хочкин	ABVD

Хромозомният анализ е проведен към момента на поставяне на диагнозата в лаборатория по цитогенетика и молекулярна биология на МБАЛ, Св. Марина" съгласно утвърдени стандартни оперативни протоколи.

Статистическата обработка е извършена с помощта на Microsoft Excel 2007.

РЕЗУЛТАТИ

Пет от случаите са диагностицирани като МДС, 2 от тях трансформирали в ОМЛ в рамките на 2 и 6 месеца. 8 от случаите са диагностицирани като ОЛ. Според морфологията и фенотипа 4 от случаите с ОЛ са М1, 3-М4, 2-М0, 1-В-ОЛЛ. Медианата на латентния период от конвенционалната терапия до развитие на т-МДС/ОМЛ е 10 години (2-25 години).

Цитогенетичното изследване показва нормален кариотип при 4 от случаите

(30,7%), комплексен кариотип с три и повече аномалии при 7 (50,8%), del5q при 1 пациент. Най-често повтарящите се аберации са del 5q (5 случая), аномалии на 22 хромозома (-22 и +22 в три случая на комплексен кариотип), монозомия 7 (при 2 случая с комплексен кариотип) (Табл.2). От пациентите с МДС трима са с нормален кариотип, един с комплексен, включващ del5q, и един с del5q като самостоятелна аберация (Табл.3). Седем от осемте случая с т-ОМЛ са с комплексен кариотип, а един с нормален (Табл.4).

Три от пациентите са лекувани с ниски дози цитозар и хидроксурея. При 5 от пациентите са приложени 2-3 индукционни курса по протоколи 7+3, EMA, FLAG, и Ida-FLAG. Един от пациентите с ОЛЛ е лекуван по протокол GMALL (Табл 4). В нито един от случаите не е постигната ремисия. Медианата на преживяемостта е 4,5 месеца (0,5-8 месеца).

Табл. 2. Цитогенетичен профил

МДС	46, XX
МДС-5 q	46, XX, del(5)(q31)
МДС-RAEBII	46, XY
МДС-ОМЛ	46, XX
МДС-ОМЛ-М1	46, XX, +11, -22, del(5)(q31), del(20)(q12)
ОЛЛ	46-47, XX, add (2)(q), -3, del(5)(q), +C, del(15)(q21), +mar{cp6}/46, XX [4]
ОМЛ-М0	
ОМЛ-М1	46, XX, inv(1)(p36;q21);t(3;5)(q21;q31)[9]/46, XX[5]
ОМЛ-М1	48-54, XX, +1, +8, +13, +14, +17, +19, +20, +21, +22
ОМЛ-М1	46, XX, -7, +22[10]/46, XX, idem, del(3)(q23-25)[10]
ОМЛ-М4	44-45, X, -X, del(1)(p32), del(5)(q15;q33), -7, -9, del(16)(q22), -18, +2mar{cp8}/46, XX[2]
ОМЛ-М4	43-45, XX, del(9)(q13;q22), +12, -16, -17, -18, +mar[3]{cp8}
ОМЛ-М4	46, XX

Табл. 3. Характеристика на пациентите с т-МДС

					Време до	
БХ	RA	20	36	CT		46, XX
гърда	5 q	20	35	CT		46, XX, del(5)(q31)
устна	RAEBII	14	36	CT		46, XY
	RAEBII	9	5		2	46, XX
гърда	RAEBII	15	5,5	7+3, 7+3, FLAG	6	46, XX, +11, -22, del(5)(q31), del(20)(q12)

Табл. 4. Характеристика на пациентите с т-ОЛ

Първична неоплазия	Т-ОМЛ	Латентен период/г/	Преживяемост/м/	Лечение	Цитогенетичен профил
гърда	МДС-ОМЛ-М1	15	5,5	7+3, 7+3, FLAG	46,XX, +11, -22, del(5)(q31), del(20)(q12)
ендометриум	ОЛЛ	2	0,5	GMALL	46-47, XX, add (2)(q), -3, del(5)(q), +C, del(15)(q21), +mar{cp6}/46, XX [4]
гърда	ОМЛ-М0	25	1	LDC, Hydrea	
овариален	ОМЛ-М1	15	0,5		46, XX, inv(1)(p36;q21);t(3;5)(q21;q31)[9]/46, XX[5]
гърда	ОМЛ-М1	10	4	FLAG, 5+3	48-54, XX, +1, +8, +13, +14, +17, +19, +20, +21, +22[5]
гърда	ОМЛ-М1	8	3	7+3, IDA-FLAG	46, XX, -7, +22[10]/46, XX, idem, del(3)(q23-25) [10]
овариален	ОМЛ-М4	3	4	LDC	44-45, X, -X, del(1)(32), del(5)(q15;q33), -7, -9, del(16)(q22), -18, +2mar{cp8}/46, XX[2]
гърда	ОМЛ-М4	2	3	7+3, 7+3	43-45, XX, del(9)(q13;q22), +12, -16, -17, -18, +mar[3]{cp8}
гърда	ОМЛ-М4	3	8	EMA, 7+3, 7+3	46, XX

ОБСЪЖДАНЕ

Т-МДС/ОМЛ е сериозно, все по-често срещащо се усложнение след цитотоксична химиотерапия и/или лъчетерапия.

По литературни данни водещи първични малигнитети са хематологичните (53%), следвани от рака на гърдата и овариалния рак (30%) (7). В групата анализирани от нас пациенти най-честата първична неоплазия се оказва карциномът на гърдата. Адювантната химиотерапия при рак на гърдата, често включваща алкилиращ агент и антрациклин е свързана с висок риск от т-МДС/ОМЛ. Основните медикаменти, използвани в схемите за химиотерапия са антрациклин, паклитаксел и цисплатина. Известен е левкемогенният ефект на паклитаксел и карбоплатина. Многобройни са случаите на т-ОМЛ при пациенти лекувани с тези медикаменти като са описани небалансирани транслокации включващи части на 5 и/или 7 хромозома. Рискът се увеличава с нарастване на кумулативната доза (8). Обширно проучване на университета Stanford демонстрира

риска от т-МДС/ОМЛ след лечение на Болест на Хочкин като обсъжда основната роля на кумулативната доза алкилиращи агенти. При 50% от анализирани пациенти се открива хромозомна загуба на 5q или 7 хромозома (9). Horiike S et al. установяват че 50% от пациентите с подобна загуба имат мутация TP53 и RER (грешка в репликацията) (10). Т-МДС с монозомия 5 и 7 е наблюдаван и у пациент лекуван с антрациклини по повод остра промиелоцитна левкемия, което показва, че антрациклините имат ефект, подобен на алкилиращите агенти (11). Pedersen-Bjergaard J и сътрудници анализират цитогенетичните характеристики на 137 случая с т-МДС/ОМЛ и установяват, че балансирани транслокации на 11q23 и 21q22 са първично събитие, водещо директно до развитието на т-ОМЛ, а загуба на 7 хромозома (-7) или делеция (7q-) и del5q са свързани най-често с т-МДС. Друга аномалия, често срещана при т-МДС е делеция на 13 хромозома. Делеция на хромозома 5 е първично събитие и се наблюдава еднакво при т-МДС и т-ОМЛ. Първичните аномалии се срещат често в комбинация с вторични

като балансиран аберации включващи 3q26 и делеции на хромозома 3, тризомия 8, делеция на късото рамо на 12 и 17 хромозома, делеция 18, 21p- (12).

Анализът на изследваните пациенти показва подобни резултати. Най-често срещаната аномалия е del5q. В рамките на комплексния кариотип са установени аберации още на 22 хромозома (мобозомия и тризомия), монозомия 7, монозомия 18, аномалии на 3 хромозома (del3q, делеция на хромозома 3, t(3;5)), аномалии на 20 хромозома (del20q, тризомия 20), аномалии на 12, 17, 9 и др.

Нашите резултати показват, че пациентите с т-МДС/ОМЛ са високорискова група, характеризираща се с крайно неблагоприятен кариотип, резистентност към провежданата химиотерапия и кратка преживяемост. До момента няма установен стандарт за лечение на т-МДС/ОМЛ, необходими са нови клинични проучвания, отчитащи особеностите и високия прогностичен риск на тази група пациенти.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Armitage JO, Carbone PP, Connors JM, et al. Treatment-related myelodysplasia and acute leukemia in non-Hodgkin's lymphoma patients. *J Clin Oncol* 2003;21:897-906.
2. Socié G, MD, K. Scott Baker, and Bhatia S. Subsequent malignant neoplasms after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. Jan 2012; 18(1 Suppl): S139-S150.
3. Rund D, Ben-Yehuda D. Therapy-related leukemia and myelodysplasia: evolving concepts of pathogenesis and treatment. *Hematology*. 2004 Jun;9(3):179-87.
4. Michels SD, McKenna RW, Arthur DC, et al. Therapy-related acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome: a clinical and morphologic study of 65 cases. *Blood*. 1985;65:164-167.
5. Andersen MK, Johansson B, Larsen SO, et al. Chromosomal abnormalities in secondary MDS and AML. Relationship to drugs and radiation with specific emphasis on the balanced rearrangements. *Haematologica*. 1998 Jun;83(6):483-8
6. Pedersen-Bjergaard J, Philip P. Balanced translocation involving chromosome bands 11q23 and 21q22 are highly characteristic of myelodysplasia and leukemia following therapy with cytostatic agents targeting at DNA-topoisomerase II. *Blood*. 1991;78:1147-1148.
7. Rund D, Krichevsky S, Bar-Cohen S, et al. Therapy-related leukemia: clinical characteristics and analysis of new molecular risk factors in 96 adult patients. *Leukemia*. 2005 Nov;19(11):1919-28.
8. Yeasmin S¹, Nakayama K, Ishibashi M, et al. Therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia following paclitaxel- and carboplatin-based chemotherapy in an ovarian cancer patient: a case report and literature review. *Int J Gynecol Cancer*. 2008 Nov-Dec;18(6):1371-6.
9. Koontz MZ, Horning SJ, Balise R, et al. Risk of therapy-related secondary leukemia in Hodgkin lymphoma: the Stanford University experience over three generations of clinical trials. *J Clin Oncol*. 2013 10;31(5):592-8
10. Horiike S, Misawa S, Kaneko H, et al. Distinct genetic involvement of the TP53 gene in therapy-related leukemia and myelodysplasia with chromosomal losses of Nos 5 and/or 7 and its possible relationship to replication error phenotype. *Leukemia*, 1999 Aug;13(8):1235-42.
11. Athanasiadou A, Saloum R, Zorbas I, et al. Therapy-related myelodysplastic syndrome with monosomy 5 and 7 following successful therapy for acute promyelocytic leukemia with anthracyclines. *Leuk Lymphoma*, 2002 Dec;43(12):2409-11.
12. Pedersen-Bjergaard J¹, Pedersen M, Roulston D, et al. Different genetic pathways in leukemogenesis for patients presenting with therapy-related myelodysplasia and therapy-related acute myeloid leukemia. *Blood*. 1995 Nov 1;86(9):3542-52.

Адрес за контакти:

Илина Мичева
УМБАЛ "Света Марина"
Клиника По Хематология

ул. "Христо Смирненски"1
Варна, 9010
e-mail: ilinamicheva@gmail.com
Тел.: 0896262300

БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ

Методично ръководство за диагностика, лечение и проследяване на заболяванията на кръвта и кръвотворните органи

ГРУПА ЗА МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

ОСТРА МИЕЛОИДНА ЛЕВКЕМИЯ (ОМЛ)

Л. Герчева¹, Вл. Геров¹, И. Мичева¹, М. Генова², Г. Балаценко², В. Стоева², П. Георгиев³, В. Гркланов³, Г. Цветкова⁴, Н. Петкова⁵, Д. Тодориева⁶, М. Стефанова⁷

¹Клиника по хематология при УМБАЛ „Св. Марина“, Варна, ²Клиника по хематология, лаборатории по хистология и молекулярна биология при СБАЛХЗ, София, ³Клиника по хематология при УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив, ⁴Клиника по хематология при УМБАЛ „Александроска“, София, ⁵Клиника по хематология при ВМА, София, ⁶Клиника по хематология при УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен, ⁷Отделение по хематология при УМБАЛ, Стара Загора

ОМЛ е хетерогенна хематологична неоплазия, характеризираща се с клонална експанзия от миелоидни бласти в костния мозък, периферната кръв и други тъкани. Тя е най-честата форма на остра левкемия при възрастни.

ОБЩИ ДАННИ

1. Диагнозата ОМЛ се приема при:
 - наличие на $\geq 20\%$ бластни клетки в костния мозък или периферната кръв
 - диагнозата може да се приеме при $< 20\%$ бласти когато са налице повтарящи се цитогенетични аномалии: $t(15;17)$, $t(8;21)$, $t(16;16)$, $inv.16$

- имунофенотипизацията трябва да посочи миелоидна принадлежност на бластната популация
2. ОМЛ, отключена след МДС (ОМЛ-МДС) е по-резистентна към цитостатична терапия в сравнение с ОМЛ „де ново“ и може да има по-индолентен ход.
 3. Медикаментозно индуцираната ОМЛ е с по-лоша прогноза.
 4. В редките случаи когато заболяването започва изолирано, екстрамедуларно (хлорома), задължително се провежда системна химиотерапия, а след това хирургическа интервенция или локално облъчване.
 5. Диагнозата ОМЛ се поставя само в специализирана хематологична клиника.

6. Лечението и наблюдението на пациентите се провеждат само в специализирана хематологична клиника (всички изброени данни притежават степен на достоверност - категория 2А).
7. Пациентите с бласти $>50 \times 10^9/\text{л}$ са с висок риск от органна дисфункция поради левкостазата и от туморлизис синдром след започване на лечението. Те подлежат на левкафереза или циторедукция с Хидроксурея, или ниски дози Цитозар.

МЕТОДИ ЗА ИЗСЛЕДВАНИЯ И ПРОЦЕДУРИ, КОИТО ПРЕЦИЗИРАТ ДИАГНОЗАТА ОМЛ И ОПРЕДЕЛЯТ ЛЕЧЕНИЕТО (ВСИЧКИ СА КАТЕГОРИЯ 2А)

1. Анамнеза за експозиция на мутагени, данни за предшестваща МДС, минали неоплазии и лечението им, коморбидности.
2. Физикално изследване и определяне на статуса по ECOG (0-4).
3. Периферна кръвна картина (ПКК), диференциална кръвна картина – мануално изброяване (ДКК).
4. Биохимия.
5. Протромбиново време, парциално тромбoplastиново време, фибриноген.
6. Вирусологични изследвания: хепатит В, С, CMV, EBV, HIV.
7. Костен мозък (аспирация или биопсия) с морфологично изследване и цитохимия (миелопероксидаза, неспецифична естераза).
8. Цитогенетично изследване на костен мозък.
9. Имунофенотипизиране.
10. Молекулярно-генетично изследване (PCR).
- за рекурентни фузионни гени във всички случаи, когато няма материал за цитогенетично изследване
- за рекурентни фузионни гени във всички случаи, когато данните от морфологичното изследване предполагат наличие на рекурентни генетични аномалии
- изследване на прогностични маркери: FLT-ITD, NPM и други с установена прогностична значимост
11. КТ/МРТ при неврологични симптоми.
12. Лумбална пункция с ликворологично изследване (протеин, клетъчност) при наличие на неврологични симптоми ако след КТ/МРТ не е установена инфилтрация на ЦНС и скринингово при ОМЛ с монобластна компонента.
13. Ехокардиография при наличие на анамнеза за сърдечно заболяване, предишна антрациклинова терапия или наличие на симптоми от страна на ССС, които биха се задълбочили по време на лечението.
14. Поставяне на централен венозен катетер по избор.
15. HLA типизиране (изключват се пациенти, контраиндирани за алогенна трансплантация на стволови клетки) осъществява се при пациенти с интермедиерен и висок риск.
16. Информация на пациента за възможни мерки за съхранение на фертилитета: замразяване на сперма и яйцеклетки.

ОПРЕДЕЛЯНЕ НА РИСКА В ЗАВИСИМОСТ ОТ ЦИТОГЕНЕТИКАТА И МОЛЕКУЛАРНИТЕ НАРУШЕНИЯ (КАТЕГОРИЯ 2А):

Величина на риска	Цитогенетика	Молекулярни нарушения
Добър риск	Inv(16)*, t(16;16)*, t(8;21)*, t(15;17)	- Нормален кариотип + мутация на NPM1 при отсъствие на FLT3-ITD, - Нормален кариотип + изолирана биалелна мутация на CEBPA

Интермедиерен риск	- Нормална цитогенетика, - t(9;11), изолирана само +8 - Други недефинирани цитогенетични аномалии	t(8;21), Inv(16), t(16;16) в комбинация със c-KIT мутация***
Лош риск	- Комплексни ($\geq$ от 3 клонални хромозомни аномалии) - Монозомален кариотип: -5, 5q-, -7, 7q-, 11q23-non t(9;11), - inv(3), t(3;3), - t(6;9), t(9;22)**	Нормален кариотип + мутация FLT-ITD***

*При наличие и на други цитогенетични аномалии или неблагоприятни молекулярни нарушения статусът на риск за пациента престава да бъде „добър“

**Провежда се лечение като при миелоидна бластна криза на хронична миелоидна левкемия (ХМЛ)

***Висок риск от рецидив

ЛЕЧЕНИЕ НА ОМЛ

Пациентите с интермедиерен и висок риск са подходящи за интензивна индукция и последваща алогенна трансплантация. Като най-добър терапевтичен метод се приема включването на пациента в клинично изпитване.

1. Лечение на пациенти <60 години

Индукционна терапия:

- Клинично проучване (за предпочитане)
- или
- Стандартна доза Цитарабин 100-200 мг/м² в продължителна инфузия за 7 дни с Идарубицин 12 мг/м² или Даунорубицин 90 мг/м² за 3 дни (категория 1)
- или
- Стандартна доза Цитарабин 200 мг/м² продължителна инфузия за 7 дни с Идарубицин 12 мг/м² или Даунорубицин 60 мг/м² за 3 дни и Кладрибин 5 мг/м² (при възможност) за 5 дни (категория 1)
- или**
- Високи дози Цитарабин 2 г/м² на всеки 12 часа за 6 дни или 3 г/м² на всеки 12 часа за 4 дни с Идарубицин 12 мг/м² или Даунорубицин 60 мг/м² за 3 дни (пациенти <50 г. възраст) (един цикъл) (категория 2В)

След индукционна оценка и лечение на пациенти <60 години:

След стандартна доза Цитарабин:

Костномозъчно изследване 7 - 10 дни след привършване на индукцията. Поведението се определя спрямо резултата от костномозъчното изследване:

- Значимо количество бласти – търсене на донор за ТСК; втора индукция с високи или стандартни дози Цитарабин плюс Идарубицин или Даунорубицин **или** клинично проучване;
- Значима циторедукция (клетъчност >20%) с малък процент остатъчни бласти – стандартни дози Цитарабин плюс Идарубицин или Даунорубицин;
- Хипоплазия (клетъчност <10-20%, остатъчни бласти <5-10%) – изчаква се възстановяване на костния мозък

Костномозъчно изследване след хематологичното възстановяване, последващо горните процедури:

- Пълна ремисия – постремисионна оценка на риска
- Липса на ремисия – клинично проучване **или** ТСК **или** високи дози Цитарабин (ако не са използвани при предната стъпка) ± антрациклини (Идарубицин или Даунорубицин) **или** поддържащо речение

След високи дози цитарабин:

Костномозъчно изследване 7 – 14 дни след привършване на индукцията.

Поведение спрямо резултата от костномозъчното изследване:

- Значимоколичествобласти-клинично проучване **или** ТСК **или** високи дози Цитарабин (ако не са използвани при предната стъпка) $\pm$ антрациклини (Идарубицин или Даунорубицин) **или** поддържащо речение
- Значима циторедукция (клетъчност >20%) с малък процент остатъчни бласти – изчаква се възстановяване; търсене на донор
- Хипоплазия – изчаква се възстановяване

Костномозъчно изследване след хематологичното възстановяване последващо горните процедури:

- Пълна ремисия – постремисионна оценка на риска
- Липса на ремисия – клинично проучване **или** ТСК **или** поддържащо речение

Следремисионна оценка на риска при пациенти <60 години и определяне на консолидационното лечение:

- Добър цитогенетичен и молекуларен риск: високи дози Цитарабин 1,5 – 3 г/м² в инфузия за 3 часа на всеки 12 часа в дни 1,3,5 (общо 3 – 4 цикъла) (категория 1), последвани от поддържащо лечение (категория 2В) **или** 1 – 2 цикъла високодозова консолидация с Цитарабин, следвана от алогенна ТСК (категория 2В) **или** клинично проучване
- Интермедиерен цитогенетичен и молекуларен риск: алогенна ТСК **или** 1-2 цикъла базирана на високи дози Цитарабин консолидация, последвана от алогенна ТСК **или** високи дози Цитарабин 1,5 – 3 г/м² за 3 часа на всеки 12 часа в дни 1,3,5 (3 – 4 цикъла) **или** клинично изпитване
- Висок цитогенетичен и молекуларен риск или причинена от предшестващо лечение ОМЛ: клинично проучване **или** алогенна ТСК **или** 1-2 цикъла базирана на високи дози Цитарабин

консолидация, последвана от автоложна ТСК след определяне нивото на МРБ* (при липса на възможност за алогенна)

*МРБ - минимална резидуална болест

2. Лечение на пациенти ≥ 60 години Индукционна терапия:

2.1. Пациенти ≥ 60 г. с физикален статус 0 – 2, без предшестващи МДС или терапевтично индуцирана ОМЛ и с добър цитогенетичен/ молекуларен риск:

- Клинично проучване
- или
- Стандартна доза Цитарабин 100-200 мг/м² в продължителна инфузия за 7 дни с Идарубицин 12 мг/м² или Даунорубицин 45 – 60 мг/м² за 3 дни или митоксантрон (категория 2А)

или

- Ниско интензивно лечение – подкожно Цитарабин или Азациитидин, Децитабин (при наличие) (категория 2В)

или

- Интермедиерно интензивно лечение (Клофарабин при възможност) (категория 2В)

2.2. Пациенти ≥ 60 г. с физикален статус 0 - 2 плюс, неблагоприятен цитогенетичен и молекуларен риск или предшестващи МДС/ терапевтично индуцирана ОМЛ:

- Клинично проучване
- или
- Ниско интензивно лечение – подкожно Цитарабин или Азациитидин, Децитабин (при наличие)(категория 2В)

или

- Интермедиерно интензивно лечение (Клофарабин при възможност) (категория 2В)

или

- Стандартна доза Цитарабин 100-200 мг/м² продължителна инфузия за 7 дни с Идарубицин 12 мг/м² или Даунорубицин 45 – 60 мг/м² за 3 дни или Митоксантрон 12 мг/м² за 3 дни

2.3. Пациенти ≥ 60 г. с физикален статус >2 , без значима коморбидност:

- Клинично проучване или
- Ниско интензивна терапия – подкожно Цитарабин или Азациитидин, Децитабин (при наличие)(категория 2B) или
- Най-добро поддържащо лечение

2.4. Пациенти ≥ 60 г. с физикален статус 0-3 и значима коморбидност:

- Най-добро поддържащо лечение

След индукционна оценка и лечение на пациенти ≥ 60 години:

След стандартна доза Цитарабин:

Костномозъчно изследване 7-10 дни след привършване на индукцията. Поведение спрямо резултата от костномозъчното изследване:

- Персистиране на бласти при клетъчност $>20\%$ – стандартни дози Цитарабин плюс Идарубицин/ Даунорубицин или митоксантрон; **или** клинично проучване **или** редуцирана по интензитет алогенна ТСК (ако пациентът покрива критериите за алогенна ТСК) (категория 2A) **или** високи дози Цитарабин
- Хипоплазия (клетъчност $<10-20\%$, остатъчни бласти $<5-10\%$) – изчаква се възстановяване на периферната кръв и нова оценка на костния мозък

Костномозъчно изследване след хематологичното възстановяване последващо горните процедури (4-6 седмици):

- Пълна ремисия – консолидационна терапия: илинично изпитване **или** редуцирана по интензивност алогенна ТСК **или** стандартни дози Цитарабин (100 – 200 мг/м²/дн. 5-7 дни x 1-2 цикъла) $\pm$ антрациклин (Идарубицин или Даунорубицин) (категория 2A) **или**

Цитарабин 1 – 1,5 г/м²/дн. 4-6 дози x 1-2 цикъла при пациенти с добър статус и добър цитогенетичен/молекуларен риск **или** продължаване на ниско интензивното лечение - подкожно Цитарабин или Азациитидин, Децитабин (при наличие) (категория 2A)

- Липса на ремисия – клинично проучване **или** редуцирана по интензитет алогенна ТСК **или** най-добро поддържащо лечение

Мониториране на пациентите с ОМЛ по време на индукционното лечение (всички препоръки са категория 2A):

- ПКК през ден до достигане на левкоцитен брой $0,5 \times 10^9/\text{л.}$; след което 2 x седмично
- Биохимичен профил: електролити, урея, креатинин, пикочна киселина, фосфати – ежедневно при риск от тумор лизис синдром
- Показатели на хемостазата: ежедневно при доказан ДИК синдром; двукратно седмично – при липса на ДИК
- Костномозъчно изследване 7-10 дни след преустановяване на индукционното лечение за документиране на хипоплазията. Ако хипоплазия липсва – повтаряне на изследването в рамките на следващите 7-14 дни с цел доказване персистирането на бласти. При документиране на хипоплазия – повтаряне на изследването след възстановяване на хематологичните показатели с цел документиране на ремисия
- Флоуцитометрично изследване на костен мозък за определяне на минимална резидуална болест
- Цитогенетика – при наличие на абнормен кариотип – повтаряне на цитогенетиката като част от доказването на ремисия
- Молекуларно-генетично изследване за мониториране на левкемии с рекурентни цитогенетични аномалии (от костномозъчен аспират)
- Неврологичен статус, лумбална пункция – при позитивен статус или монобластна компонента

Мониториране на пациентите по време на консолидиращото лечение (всички препоръки са категория 2A):

- ПКК с ДКК 3 х седмично по време на лечението
- Биохимичен профил и електролити – ежедневно по време на лечението
- След дехоспитализация – 2 х седмично ПКК с ДКК, електролити до възстановяване на кръвната картина
- Костномозъчно изследване след възстановяване на хематологичните показатели
- Флоуцитометрично изследване на костен мозък за определяне на минимална резидуална болест
- Молекулярно-генетично изследване за мониториране на левкемии с рекурентни цитогенетични аномалии (от костномозъчен аспират)
- Пациенти с прогностично лоша цитогенетика, терапевтично-свързана ОМЛ, предшестваш МДС или такива, постигнали ремисия с 2 или повече индукционни курса са с повишен риск от рецидив и са показани за търсене на неродствен донор.

Наблюдение на пациентите след привършване на консолидационното лечение:

- ПКК – на всеки 1-3 месеца за първите 2 години, след това през 3 – 6 месеца до общо 5 години
- Костномозъчно изследване – само при поява на цитопения или на съмнителни клетки в ДКК
- При първи рецидив – търсене на подходящ донор за ТСК

ПОВЕДЕНИЕ ПРИ РЕЦИДИВ НА ОМЛ

1. Пациенти <60 години

Ранен рецидив <12 мес. след постигане на ремисия - спасяваща терапия (всички варианти са категория 2А):

- Клинично проучване (най-добър избор) или
- Спасяваща терапия, следвана от алогенна ТСК: Клофарабин + Цитарабин + G-CSF **или** Кладрибин + Цитарабин + G-CSF ± Митоксантрон/Идарубицин **или** високи

доза Цитарабин + Антрациклин (ако не са прилагани преди това) **или** Флударабин + Цитарабин + G-CSF ± Идарубицин **или** Митоксантрон + Етопозид + Цитарабин (МЕС)

Късен рецидив >12 мес. – спасяваща терапия:

- Клинично проучване (най-добър избор) или
- Спасяваща терапия, следвана от алогенна ТСК: Кладрибин + Цитарабин + G-CSF ± Митоксантрон/Идарубицин **или** високи дози Цитарабин + Антрациклин (ако не са прилагани преди това) **или** Флударабин + Цитарабин + G-CSF ± Идарубицин **или** Митоксантрон + Етопозид + Цитарабин (МЕС) или Клофарабин + интермедиерни дози Цитарабин
- или
- Повтаряне на началната успешна индукция

2. Пациенти ≥60 години

Ранен рецидив <12 мес. - спасяваща терапия:

- Клинично проучване (най-добър избор) или
- Най-добро поддържащо лечение
- или
- Спасяваща терапия, следвана от алогенна ТСК: Клофарабин + Цитарабин **или** високи дози Цитарабин + Антрациклин (ако не са прилагани преди това) **или** Флударабин + Цитарабин + G-CSF ± Идарубицин **или** Митоксантрон + Етопозид + Цитарабин (МЕС)

Късен рецидив >12 мес. – спасяваща терапия:

- Клинично проучване (най-добър избор) или
- Повтаряне на началната успешна индукция
- или
- Спасяваща терапия, следвана от алогенна ТСК: Клофарабин + Цитарабин **или** високи доз. Цитарабин + Антрациклин (ако не са

прилагани преди това) **или** Флударабин + Цитарабин + G-CSF ± Идарубицин **или** Митоскантрон + Етопозид + Цитарабин (МЕС)

или

- Най-добро поддържащо лечение

ЛЕЧЕНИЕ НА ОСТРА ПРОМИЕЛОЦИТНА ЛЕВКЕМИЯ

Левкемията се определя като остра промиелоцитна (М3) при наличие на типична морфологична картина (хиперглануларни или хипогрануларни абнормни промиелоцити) с наличие на t(15;17) или молекуларен еквивалент PML-RARa фузионен ген.

С оглед избягване на летални хеморагични усложнения ATRA се стартира при морфологично съмнение за М3, преди изчакването на цитогенетиката. Ако резултатът от цитогенетиката не се потвърди лечението се преустановява и се започва такова за ОМЛ.

Рискови групи пациенти с М3:

- Нисък риск – левкоцити $< 10 \times 10^9/\text{л}$
- Висок риск – левкоцити $> 10 \times 10^9/\text{л}$

ИНДУКЦИОННА ТЕРАПИЯ

1. **При пациенти с висок и нисък риск (стриктно мониториране за Синдром на М3 диференциация и ДИК):**
 - ATRA 45мг/м²/дневно, в 2 приема (4 дни) + Даунорубицин 50 мг/м²(4 дни), + Цитарабин 200 мг/м² (7 дни) (категория 2А)
 - ATRA 45мг/м²/дневно (3 дни) + Даунорубицин 60 мг/м²(3 дни), + Цитарабин 200 мг/м² (7 дни) (категория 2А)
 - ATRA 45мг/м²/дневно + Идарубицин 12 мг/м² (дни 2,4,6,8)
 - Клинично изпитване (категория 2А)
2. **При противопоказания за приложение на антрациклин:**
 - **ATRA 45мг/м²/дневно**, в два приема, от 1-ви ден до индуциране на пълна ремисия, максимум 60–90 дни + **арсенов**

триоксид 0,15 мг/кг/дн. венозно (до индуциране на пълна ремисия)(при възможност) (категория 2А)

Консолидация след постигане на пълна ремисия:

При болни с висок риск – възможни 3 варианта:

- Арсениев триоксид (при възможност) 0,15мг/кг/дневно x 5 дни през 5 седмици общо 2 курса, последвани от ATRA 45мг/м² дневно x7 дни + даунорубицин 50мг/м² x3 дни - 2 курса (категория 2А)
- Даунорубицин 60мг/м² x3 дни + цитарабин 200мг/м² x7 дни – 1 курс, последван от Цитарабин 1,5–2г/м² на 12 часа x5 дни + даунорубицин 45мг/м² x3 дни – 1 курс + 5 дози ИТ химиотерапия (категория 1)
- ATRA 45мг/м² x15 дни + идарубицин 5мг/м² x4 дни + цитарабин 1г/м² x4 дни – 1 курс, последван от ATRA 45мг/м² x15 дни + митоксантрон 10мг/м² x5 дни – 1 курс, последван от ATRA 45мг/м² x15 дни + идарубицин 12мг/м² x 1 ден + цитарабин 150мг/м²/8 часа x4 дни – 1 курс (категория 2А)

При болни с нисък/интермедиерен риск – възможни 2 варианта:

- ATRA 45мг/м² x15 дни + идарубицин 5–7мг/м² x4 дни (1 курс), последван от ATRA 45мг/м² x15 дни + митоксантрон 10мг/м² x5 дни (1 курс), последван от ATRA 45мг/м² x15 дни + идарубицин 12мг/м² x1 ден (1 курс) (категория 1)
- Даунорубицин 60мг/м² x3 дни + цитарабин 200мг/м² x7 дни (1 курс), последван от Цитарабин 1г/м² през 12 часа x4 дни + даунорубицин 45мг/м² x3 дни (1 курс) (категория 1)
- Арсениев триоксид 0,15 мг/кг/дн x5 дни от седмицата за 4 седмици общо 4 курса започващи всяка 8-ма седмица, последван от ATRA 45мг/м² за 2 седмици, 7 цикъла, започващи на всяка 4-та седмица
- Арсениев триоксид 0,15 мг/кг/дн x5 дни от седмицата за 5 седмици общо 2 курса, последван от ATRA 45мг/м² x7 дни + Даунорубицин 50мг/м² x3 дни (2 курса) (категория 2А)

КРИТЕРИИ ЗА ПРОДЪЛЖИТЕЛНА РЕМИСИЯ И ПОВЕДЕНИЕ:

- След последната консолидация - PCR на костен мозък за потвърждаване на молекулярна ремисия, последващите изследвания – от периферна кръв
- При позитивиране на PML/RAR в периферната кръв – в рамките на 2 седмици от доказването му задължително PCR изследване на костен мозък
- При MR - поддържаща терапия в продължение на 2 години.
- Мониторинг на ремисията чрез PCR се извършва на 3 месеца за 2 години.
- При клинично съмнение за рецидив – подход както при поставяне на начална диагноза

ЛЕЧЕНИЕ НА РЕЗИСТЕНТНА ОМЛ – МЗ

Персистиране на > 5% бласти 60 дни след започване на лечението с ATRA. Възможности:

- Режими, използвани за лечение на не-М₃-ОМЛ
- Арсениев триоксид (при възможност)
- Клинични проучвания
- Алогенна стволовоклетъчна трансплантация

ЛЕЧЕНИЕ НА РЕЦИДИВ НА ОМЛ – МЗ

При I-ви рецидив лечението се провежда с:

- Режими, използвани за лечение на не-МЗ-ОМЛ
- Арсениев триоксид 0,15 мг/кг/дн., венозно (при възможност) ± ATRA 45мг/м² в две дневни дози

Лечение при рефрактерен рецидив

- Алогенна стволовоклетъчна трансплантация
- Клинични проучвания

КОНСОЛИДАЦИЯ ПРИ ВТОРА ПЪЛНА РЕМИСИЯ

- Автоложна трансплантация на стволови клетки (TСК) - при PCR(-) за PML-RARa фузионен протеин
- Алогенна стволовоклетъчна трансплантация при PCR(+)
- Клинични проучвания

- Арсениев триоксид (6 курса) – при липса на възможност за трансплантация

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ НА ЛЕВКЕМИЯТА НА ЦНС

Диагностика:

При наличие на неврологична симптоматика:

КТ/ЯМР – кръвоизлив или левкемичен инфилтрат:

- При негативен образ – лумбална пункция: при чист ликвор – повтаряне на лумбалната пункция ако симптомите персistirат; при положителни патологични отклонения в ликвора – интратекално лечение 2 пъти седмично до изчистване на ликвора, след това седмично x 4-6 седмици
- При данни за инфилтрат или повишено интракраниално налягане – лъчетерапия, следвана от интратекална терапия 2 пъти седмично до изчистване на ликвора, след това ежеседмично x 4-6 седмици

При липса на неврологична симптоматика след постигане на пълна ремисия (M4, M5 или бифенотипна левкемия), или след диагностициране при левкоцитоза >100 x 10⁹/l:

Лумбална пункция:

- Негативен резултат – наблюдение и повтаряне при поява на симптоми
- Положителен ликвор (левкемични клетки) - интратекално лечение 2 пъти седмично до изчистване на ликвора или ако пациентът ще получава високи дози Цитозар – контролна лумбална пункция след привършване на високодозовото лечение

ПРИНЦИПИ НА ПОДДЪРЖАЩОТО ЛЕЧЕНИЕ ПРИ ОМЛ

1. Приложение на кръвни продукти (всички категория 2A)

- Показания: Хб < 80 г/л, Тр < 10 x 10⁹/л (или при кървене)
- Изисквания към кръвните продукти:

да бъдат очистени от левкоцити, да бъдат облъчени в случаи на използване на имуносупресивна терапия (ТСК)

- При потенциалните кандидати за ТСК – скрининг на кръвните продукти за CMV.

•

2. **Профилактика на тумор лизис синдром**

- Хидратация и диуретици
- Алкализация на урината
- Алопуринол (или Расбуриказа – инжекции)

•

3. **Профилактика на токсичността при високи дози Цитарабин**

- Неврологичен оглед – нистагъм, неясен говор, дизметрия (опасност от увреждане на церебелума) - преди всяка доза
- Проследяване на креатинина – при бързо нарастване – преустановяване на високите дози до нормализиране на нивото му
- При поява на церебеларна токсичност – окончателно спиране на Цитарабина
- Прилагане на стероидни капки за очи 4 x дневно до 24-ти час след преустановяване на лечението с високи дози Цитарабин

4. **Прилагане на растежни фактори**

- Лечението започва след преустановяване на химиотерапията
- Лечението с G-CSF може да опороочи точната интерпретация на костния мозък – да се спрат минимум 7 дни преди костномозъчната оценка

5. **Антибиотична, противовирусна и антимикотична терапия във фазата на миелосупресия**

- Антибиотици – според болничния стандарт
- При липса на клинична картина не е необходима антивирусна профилактика
- Антимикотици – подходящи са всички видове; азолите да не се прилагат успоредно с антрациклиновата

терапия тъй като нарушават метаболизма и повишават токсичността на антрациклините

6. **Лечение на синдрома на дисеминирано вътресъдово съсирване (най-чест при М3, М4 и М5 варианти)**

- При наличие на коагулопатия централен венозен път се поставя след овладяването ѝ

7. **Синдром на диференциацията при остра промиелоцитна левкемия**

- Стриктно следене за разтрисане, задух, хипоксемия, плеврални или перикардни изливи
- Стриктно следене за обемно натоварване и преценка на белодробния статус
- Следене на левкоцитния брой – при нарастване $>10 \times 10^9/\text{л}$ се повишава риска от инфилтрация на ЦНС – интратекална профилактика
- При първи симптоми – Дексаметазон 12 мг 2 x дневно за 3-5 дни, след което постепенно намаляване на дозата
- Временно преустановяване на лечението с ATRA до възстановяване състоянието на пациента

КРИТЕРИИ ЗА ОТГОВОР КЪМ ЛЕЧЕНИЕТО ПРИ ОСТРА МИЕЛОИДНА ЛЕВКЕМИЯ:

Пълна ремисия (CR)

Морфологична пълна ремисия:

- Абсолютен неутрофилен брой $>1,0 \times 10^9/\text{л}$.
- Тромбоцити $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$.
- Няма данни за екстрамедуларни инфилтрати
- В костния мозък $<5\%$ бласти без пръчици на Auer (при липса на костномозъчни партикули в аспирата да се пристъпи към трепанобиопсия на костния мозък)
- Не се налагат трансфузии на кръвни продукти
- Няма клинични признаци на заболяването

Цитогенетична пълна ремисия

- Нормализиране на цитогенетиката (при предшествващи промени)

Молекуларен пълен отговор – негативни изследвания

В някои клинични проучвания е навлязло широко понатието CRi или CRp – налице са всички данни за пълна ремисия с изключение на персистираща цитопения (най-често тромбоцитопения)

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Swerdlow SH, Campo E, Lee Harris N, et al (eds). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (4-th edition), IARC, 2008
2. The NCCN Guidelines version 2.2013 Updates Acute Myeloid Leukemia
3. Gregory TK, Wald D, Chen Y et al. Molecular prognostic markers for adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics. *Journal of Hematology & Oncology* 2009, 2:23
4. Paschka P, Du J, Schlenk RF et al. Secondary genetic lesions in acute myeloid leukemia with inv(16) or t(16;16): a study of the German-Austrian AML study group (AMLSG). *Blood* 2013; 121:170-177
5. Perrot A, Luquet I, Pigneux A et al. Dismal prognostic value of monosomal karyotype in elderly patients with acute myeloid leukemia: a GOELAMS study of 186 patients with unfavorable cytogenetic abnormalities. *Blood* 2011; 118:679-685
6. Patel JP, Gonen M, Figueroa ME et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366:1079-1089
7. Santos FP, Jones D, Qiao Q et al. Prognostic value of FLT3 mutations among different cytogenetic subgroups in acute myeloid leukemia. *Cancer* 2011; 117:2145-2155
8. Dohler H, Estey EH, Amadori S et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adult & recommendations from an international expert panel, on behalf of European Leukemia Net. *Blood* 2010; 115:453-474
9. Rolling C, Bornhauser M, Thiede C, et al. Long-term prognosis of acute myeloid leukemia according to the new genetic risk classification of the European LeukemiaNet recommendations: evaluation of the proposed reporting system. *J Clin Oncol* 2011; 29: 2758-2765
10. Iland HJ, Bradstock K, Supple SG et al. All-trans-retinoic acid, idarubicin and IV arsenic trioxide as initial treatment in acute promyelocytic leukemia (APML4). *Blood* 2012; 120: 1570-1580
11. Avvisati G, Lo-Coco F, Paoloni FP et al. AIDA0493 protocol for newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: very long term results and role of maintenance. *Blood* 2011; 117:4716-4725
12. Bradstock K, Matthews J et al. A randomized trial of high-versus conventional-dose cytarabine in consolidation chemotherapy for adult de novo acute myeloid leukemia in first remission after induction therapy containing high-dose cytarabine. *Blood*, 2005, 105, 481
13. Holowiecki J, Grosicki S, Giebel S et al. Cladribine, but not Fludarabine, Added to Daunorubicin and Cytarabine during induction prolongs survival of Patients with Acute Myeloid Leukemia: A multicenter Randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2012; 30:2441-2448
14. Lowenberg B, Pabst T, Vellenga E et al. Cytarabine dose for Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 2011; 364:1027-1036
15. Bertoli S, Bories P, Béné MC et al. Prognostic impact of day 15 blast clearance in risk-adapted remission induction chemotherapy for younger patients with acute myeloid leukemia: long-term results of the multicenter prospective LAM-2001 trial by the GOELAMS study group. *Haematologica* 2014; 99(1): 46-53
16. Lee JH, Choi SH et al. Continuous infusion intermediate-dose cytarabine, mitoxantrone plus etoposide for refractory or early relapsed acute myelogenous leukemia *Leuk Res.* 2006, 30, 204
17. Pastore D, Speechia G et al. FLAG-IDA in the treatment of refractory/relapsed acute myeloid leukemia. *Ann Hematol* 2003, 82, 231
18. Faderi S, Wetzler M, Rizzieri D et al. Clofarabine plus cytarabine compared with cytarabine alone in older patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia: results from the CLASSIC I trial. *J Clin Oncol* 2012; 30:2492-2499
19. Sanz M, Guillermo M et al. Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia with all-trans-retinoic acid and anthracycline monotherapy: a multicenter study by PETHEMA group. *Blood*, 2004, 103, 1237
20. Martin MG, Welch JS, Augustin K et al. Cladribine in the treatment of acute myeloid leukemia: a single institution experience. *Clin Lymphoma Myeloma* 2009; 9:298-301
21. Stefan Faderl, Farhad Ravandi, Xuelin Huang, Guillermo et al. A randomized study of clofarabine versus clofarabine plus low-dose cytarabine as front-line therapy for patients aged 60 years and older with acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome. *Blood* 2008 112: 1638-1645
22. Hady Ghanem, Elias Jabbour, Stefan Faderl, et al. Clofarabine in leukemia, *Expert Rev. Hematol.* 2010 3 (1): 15-22
23. Dohner H, Estey EH, Amadori S et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of European LeukemiaNet. *Blood* 2010, 115 (3): 453-467

БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ

МИЕЛОДИСПЛАСТИЧНИ СИНДРОМИ (МДС)

Л. Герчева¹, Вл. Геров¹, И. Мичева¹, М. Генова², Г. Балаценко², В. Сроева², П. Георгиев³, В. Гркланов³, Г. Цветкова⁴, Н. Петкова⁵, Д. Тодориева⁶, М. Стефанова⁷

¹Клиника по хематология при УМБАЛ „Св. Марина“, Варна, ²Клиника по хематология, лаборатории по хистология и молекулярна биология при СБАЛХЗ, София, ³Клиника по хематология при УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив, ⁴Клиника по хематология при УМБАЛ „Александроска“, София, ⁵Клиника по хематология при ВМА, София, ⁶Клиника по хематология при УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен, ⁷Отделение по хематология при УМБАЛ, Стара Загора

Определение

Хетерогенна група от неопластични клонални заболявания на стволовата клетка, характеризиращи се с костно мозъчна недостатъчност поради повишена апоптоза в костния мозък, цитопения в периферната кръв и процент на бласти в костния мозък от няколко до 19%.

Епидемиология

Заболеваемост между 5/100 000 за пациенти под 60 години и >30/100 000 при възраст над 70 години.

КЛАСИФИКАЦИЯ НА МДС: СЗО (WHO) 2008 г.

Класификация на *de novo* МДС

Подгрупа	Периферна кръв	Костен мозък
RCUD-Рефрактерна цитопения с унилинеарна дисплазия. Рефрактерна анемия (RA) или неутропения (RN), или тромбоцитопения (RT)	Уни- или бицитопения	Дисплазия в >10% на една линия, <5% бласти
RARS-Рефрактерна анемия с ринг сидеробласти RARS-t Подгрупа на RARS с висока честота на JAK2 мутация и тромбоцитоза $\geq 450 \times 10^9/\text{л}$	Анемия, липса на бласти	<5% бласти $\geq 15\%$ ring сидеробласти Еритроидна дисплазия (единствена)

RCMD-Рефрактерна цитопения с мултилинеарна дисплазия RCMD-RS-Рефрактерна цитопения с мултилинеарна дисплазия с ринг сидеробласти	Цитопения(и), $<1 \times 10^9/\text{л}$ моноцити	Дисплазия $\geq 10\%$ от клетките в ≥ 2 миелоидни линии $< 5\%$ бласти $\geq 15\%$ ring сидеробласти
RAEB-I-Рефрактерна анемия с ексцес на бласти-I	Цитопения(и), $\leq 2-4\%$ бласти, $<1 \times 10^9/\text{л}$ моноцити	5-9% бласти, унилинеарна или мултилинеарна дисплазия, без Ауерови пръчици
RAEB-II	Цитопения(и), 5-19% бласти, моноцити $<1 \times 10^9/\text{л}$	10 – 19% бласти, $>10\%$ Ауерови пръчици
МДС асоцииран с изолирана делеция(5q)	Анемия, тромбоцити-нормални или повишени	Нормален или завишен брой на мегакариоцитите с хиполобулирани ядра и изолирана делеция на дългото рамо на хромозома 5, $<5\%$ бласти
MDS-U-МДС, неклаифициран	Цитопения	Унилинеарна дисплазия или липса на дисплазия, но цитогенетични аномалии, характерни за МДС, $<5\%$ бласти

RA –refractory anemia; RAEB – refractory anemia with excess blasts; RARS – refractory anemia with ringed sideroblasts; RARS-t-refractory anemia with ringed sideroblasts with thrombocytosis; RCMD-RS – refractory cytopenia with multilineage dysplasia with ringed sideroblasts; RCUD – refractory cytopenia with unilineage dysplasia; MDS-U –unclassified

ЗАДЪЛЖИТЕЛНИ МЕТОДИ ЗА ИЗСЛЕД- ВАНИЯ И ПРОЦЕДУРИ, КОИТО ПРЕЦИЗИ- РАТ ДИАГНОЗАТА МДС И ОПРЕДЕЛЯТ ЛЕЧЕНИЕТО:

1. Анамнеза - предишна химио- или радио терапия, фамилна история за МДС/ОМЛ, повтарящи се инфекции/кървене.
2. Клиничен преглед - бледост, хеморагична диатеза, инфекции, спленомегалия, клинични данни за обемен процес.
3. Пълна кръвна картина и диференциално броене, ретикулоцити.
4. Аспирация на костен мозък с оцветяване за желязо, цитогенетични и молекулярно-генетични изследвания. Необходимо е да се анализират най-малко 200 клетки в костния мозък и 20 мегакариоцита. Търсене на псевдо-пелгер неутрофили, ринг сидеробласти, оценка на гранулираността на неутрофилите (само в контекста на останалите нарушения, не като изолирана находка).
5. Трепанобиопсия - оценка на мегакариоцитната дисплазия, търсене на абнормална локализация на незрели прекурсор - (ALIP), оценка на клетъчността (хипоцелуларен МДС) и степента на фиброза.
6. Серумно ниво на еритропоетин (преди трансфузия на еритроцитен концентрат).
7. Серумно ниво на витамин B12; фолиева киселина.
8. Серумен феритин, желязо, ЖСК.
9. TSH за изключване на хипотиреоидизъм.
10. Вирусологични и микробиологични изследвания: CMV, HIV, хепатитни вируси, Васерман.

Препоръчителни изследвания:

- Флоуцитометрично изследване (имуно-фенотипизация)
- Пълно HLA – типизиране при болни, подходящи за костно-мозъчна трансплантация
- Скрининг за HLA-DR15 за определяне на болни, подходящи за лечение с имunosupресивна терапия
- Молекулярно-цитогенетични (FISH) изследвания за оценка на ХММЛ пациентите за 5q31-33 транслокация и PDGFR β пренареждания
- Изследване за JAK2 мутация при пациенти с тромбоцитоза

При възможност и необходимост:

- Скрининг за PNH клон (пароксизмална нощна хемоглобулинурия) - CD55 и CD59 (при показания)
- Генетичен скрининг за пациенти с фамилна цитопения (Анемия на Fanconi, дискератоза конгенита - скъсяване на теломерите, мутации на DKC1, TERT, или TERC; RUNX1 мутации, делеции или транслокации при автозомно доминантно фамилно заболяване с тромбоцитопения и висок риск от МДС/ОМЛ; унаследявани мутации на GATA2 при фамилии с ранен МДС/ОМЛ)
- Изследване на други молекулярни маркери - TET2, ASXL1, RUNX1, TP53, EZH2, NRAS, JAK2, ETV6, CBL, IDH2
- TP53, EZH2, ETV6, RUNX1, ASXL1 се оказват независими предиктори на ниска обща преживяемост

МИНИМУМ КРИТЕРИИ ЗА ПОСТАВЯНЕ НА ДИАГНОЗА МДС

- *Цитопения*, задържаща се за поне 6 месеца, с изключение на:
 - случаи със специфичен кариотип
 - билинеарна дисплазия за повече от 2 месеца
- *Изключване* на реактивни причини за дисплазия: мегалобластна анемия, HIV, алкохолизъм, скорошна цитотоксична терапия, тежко съпътстващо заболяване
- *В допълнение* трябва да е налице поне един от трите свързани с МДС критерии:
 - 1) Наличие на диспластични промени в >10% от клетките на една или повече линии в костния мозък (аспират, трепанобиопсия или флоуцитометрия)
 - 2) Бласти 5-19%
 - 3) Рекурентни МДС - свързани кариотипни промени: -5/del(5q), del(20q), +8, -7/del(7q)

Препоръки за флоуцитометрия

- Процентът бласти за целите на диагнозата не се определя чрез флоуцитометрия, а чрез морфологична оценка
- При първоначалната оценка на МДС флоуцитометричното изследване може да бъде използвано за:

- характеризиране на бластите
- абнормна диференциация или аберантна антигенна експресия, насочващи към МДС
- отграничаване на абнормни лимфоидни популации
- при необходимост за установяване на PNH клон

Препоръки за морфологична оценка на МДС

- *Белези на дисеритропоеза*: гигантски еритробласти, многоядрени еритробласти, еритробласти в периферната кръв, базофилно пунктирани еритроцити в периферната кръв, промяна на формата на еритроцитите, биморфична кръвна картина - срещат се както нормални, така и променени по морфология еритроцити
- *Белези на дисгранулоцитопоеза*: аномалия на Pelger – Huet, микрогранулирани неутрофили, хипергранулирани неутрофили, нарушено съзряване на неутрофилите в костния мозък, бласти в периферната кръв, моноцитоза
- *Белези на дисмегакариоцитопоеза*: микро-мегакариоцити, гигантски тромбоцити, хиполобулирани мегакариоцити
- *Бласт-еквиваленти*, които включват:
 - Определяне на бластите като агранулирани и гранулирани (вместо предишните тип I, II и III бласти)
 - Определяне на диспластичните промиелоцити, които се различават от цитологично нормалните и гранулираните бласти
- *Ринг сидеробластите* се дефинират като еритробласти с минимум 5 сидерозомни гранули, покриващи поне една трета от обиколката на ядрото

СТРАТИФИКАЦИЯ И ОЦЕНКА НА РИСКА

IPSS системата (1997)(табл.1) се използва за определяне на риска и вземане на терапевтично решение. Обединяват се процента бласти, цитогенетиката и периферната цитопения и се определят четири рискови групи с различна преживяемост и риск от левкемична еволюция.

Табл. 1 Международен прогностичен индекс (IPSS)

Показател	0	0.5	1.0	1.5	2.0
Бласти в костният мозък	< 5%	5% - 10%	--	11%-20%	21%-30%
*Кариотип	Нисък	Интерм.	Висок	--	--
Брой цитопении**	0-1	2-3	--	--	--

* Според цитогенетичните аномалии са налице три цитогенетични групи:

Нисък риск: нормален кариотип, -Y, del (5q) и - 20q като отделни аномалии. **Интермедиерен риск:** други аномалии (не включени в първата и третата група). **Висок риск:** комплекс от аномалии (≥ 3 аномалии) или аномалии на хромозома 7.

** Hg < 100 g/l; Неутрофили < $1,8 \times 10^9/l$, тромбоцити < $100 \times 10^9/l$

Според сумарната стойност от комбинацията на трите фактора болните с МДС се разпределят в 4 рискови групи: нисък риск, интермедиерен риск-1 (Инт-1), Интермедиерен риск-2 (Инт-2) и висок риск (4, 5, 17).

Рискова категория	Нисък	Инт-1	Инт-2	Висок
Оценка	0	0.5-1.0	1.5-2.0	≥ 2.5

Дефиниция на WHO адаптирана прогностична скоринг система (WPSS): включва клинични белези – необходимост от трансфузии (табл.2)

Табл. 2 WHO адаптирана прогностична скоринг система (WPSS)

Точки				
	0	1	2	3
WHO	RA, RARS, 5q-	RCMD, RCMD-RS	RAEB-I	RAEB-II
*Кариотип	Нисък	Интермедиерен	Висок	-
**Трансфузии	не	да	-	-

Група риск	Много нисък	Нисък	Интермедиерен	Висок	Много висок
Оценка	0	1	2	3-4	5-6

* Според цитогенетичните аномалии са налице три цитогенетични групи:

Нисък риск: нормален кариотип, -Y, del (5q) и - 20q като отделни аномалии. **Интермедиерен риск:** други аномалии (не включени в първата и третата група). **Висок риск:** комплекс от аномалии (≥ 3 аномалии) или аномалии на хромозома 7.

**Трансфузионни нужди: поне 1 трансфузия на 8 седмици за период от 3 месеца.

Ревизирана международна прогностична скоринг система (IPSS-R) създадена от Международната работна Група за прогноза при МДС (2012)(табл.3)

Табл. 3 IPSS-R прогностичен индекс

Прогностичен индекс	0	0.5	1	1.5	2	3	4
Кариотип	Много добър		Добър		Междиен	Лош	Много лош
Бласти в костният мозък %	≤ 2		$>2-<5\%$		5-10%	$>10\%$	
Хемоглобин	≥ 100		80-100	<80			
Тромбоцити	≥ 100	50-100	<50				
ANC	≥ 0.8	<0.8					

IPSS-R цитогенетични рискови подгрупи:

Прогностични цитогенетични подгрупи	Цитогенетични аномалии
Много добър	-Y, del(11q)
Добър	Нормален кариотип, del(5q), del(12p), del(20q), двойни аномалии, включващи del(5q)
Междинен	del(7q), +8, +19, i(17q), друг единичен или двоен независим клон
Лош	-7, inv(3)/t(3q)/del(3q), двойни аномалии, включващи -7/del(7q), Комплексен кариотип: 3 аномалии
Много лош	Комплексен: >3 аномалии

IPSS-R прогностични групи риск

Група риск	Оценка
Много нисък	≤1.5
Нисък	>1.5 - 3
Междинен	>3 - 4.5
Висок	>4.5 - 6
Много висок	>6

ЛЕЧЕНИЕ НА МДС

Терапевтични възможности:

При асимптоматични пациенти с добра прогноза и много нисък риск е необходимо само клинично проследяване - наблюдение, без включване на специфична терапия.

1. Поддържаща терапия - принципи

Поддържащата терапия е основно лечение при пациентите с нисък риск или с неблагоприятна прогноза, чиято възраст или общо състояние не позволяват по-интензивна форма на терапия.

1.1 Трансфузии :

- Обезлеukoцитен еритроцитен концентрат - при симптоматична анемия (не е възможно определянето на критична хемоглобинова граница за хемотрансфузия като всеки индивидуален случай трябва да се преценява индивидуално)
- Тромбоцитни концентрати при риск от тромбоцитопенично кървене.
- При кандидати за трансплантация на

стволови клетки - облъчени продукти

- При необходимост от чести преливания трябва да се търси съвместим донор по HLA-A и B

1.2 Антибиотици при бактериална инфекция

- Антибиотична и антимикотична профилактика не е наложителна

1.3 Антифибринолитици се прилагат при кървене, рефрактерно на тромбоцитни трансфузии или при тежка тромбоцитопения.

1.4 Хелираща терапия се прилага при вливане на >20-30 Е еритроцитен концентрат (над 5 гр. желязо) или серумен феритин >2500 mcg/L Използва се при пациенти с нисък или инт-1 риск; с чернодробна и сърдечна дисфункция, или кандидати за трансплантация. Провежда се със:

- Deferasirox 20-30 мг/кг/дн през устата (при пациенти с креатининов клирънс <40мл/мин deferasirox не се прилага)
- Deferioxamine в доза 25 - 40мг/кг/дн в 12 часова подкожна инфузия 5-7 дни седмично
- Цел на лечението: феритин <1000 mcg/L

1.5 **Лечение с растежни фактори:**

- **EPO**
- **G-CSF**
 - Не се препоръчва за рутинна профилактика на инфекциите
 - Да се използва само при повтарящи се или резистентни инфекции при неутропенични пациенти
 - Да се комбинира с EPO при индикации

2. **Неинтензивна химиотерапия (при възможност)**

2.1 **ДНК метилтрансферазни инхибитори:**

- Azacytidine - При пациенти с прогресиращ МДС или при висок риск; доза 75 мг/м² подкожно 7 дни месечно за 4-6 курса. Възможно е удължаване на терапията.
- Decitabine - действието му е подобно на това на 5-azacytidine; доза 20 мг/м² в инфузия за 1 час, в цикли от по 5 дни

2.2 **Имуносупресивна терапия:**

Антитимоцитен глобулин и/или Циклоспорин А (при показания - HLA-DR15 +)

2.3 **Модулатори на имунния отговор:**

- Lenalidomide е показан при пациенти с 5q синдром или трансфузионно зависими 5q негативни пациенти с нисък или инт-1 риск, чиято анемия не отговаря на първичната терапия; прилага се перорално в доза 10 мг/дн. в ежемесечни цикли от 21 дни като при поява на токсичност дозата може да бъде редуцирана до 5 мг/дн.
- Thalidomide

2.4 **Ниски дози Cytarabine (2x20mg)**

3. **Интензивна химиотерапия**

3.1 **Интензивна индукционна терапия (както при ОМЛ)**

- Idarubicin + Cytarabine
- Fludarabine + Cytarabine

При постигане на пълна ремисия, същата не може да бъде поддържана без алогенна трансплантация.

1.2 **Костно-мозъчна трансплантация**

Подходяща при :

- млада възраст
- малка давност на болестта

- висока степен на HLA-съвместимост
- първичен МДС
- бласти в к.м. < 10%
- нисък цитогенетичен риск

ЛЕЧЕНИЕ НА БОЛНИ С НИСЪК И ИНТЕРМЕДИЕРЕН РИСК-1 МДС

Болните без клинично изявена цитопения остават под активно наблюдение.

При симптоматична анемия:

- При 5q синдром със или без други цитогенетични аномалии - лечение с Lenalidomide (при възможност)
- При EPO >500 mU/ml – изследване за HLA-DR 15. При HLA-DR15+ позитивни: лечение с ATG ± Ciclosporine A или само Ciclosporine A (при възможност). При липса на отговор да се обсъжда лечение с Azacitidine, Decitabine, lenalidomide (при възможност), включване в клиничните проучвания или алогенна трансплантация за отделни инт-1 пациенти. HLA-DR15 негативни: лечение с Azacitidine, Decitabine, lenalidomide, включване в клиничните проучвания или алогенна трансплантация за отделни инт-1 пациенти
- При EPO ≤ 500 mU/ml: лечение с рекомбинантен EPO/дарбепоедин алфа ± ниски дози G-CSF. При липса на ефект - лечение с Azacitidine, Decitabine, включване в клиничните проучвания или алогенна трансплантация за отделни инт-1 пациенти

При болни с други тежки цитопении: тромбоцитопения, неутропения - лечение с Azacitidine, Decitabine. При липса на отговор се обсъжда лечение с имуносупресивна терапия, включване в клинични проучвания или алогенна трансплантация за избрани пациенти с интермедиерен риск -1 МДС.

ЛЕЧЕНИЕ НА БОЛНИ С ИНТЕРМЕДИЕРЕН РИСК-2 И ВИСОК РИСК МДС

Терапевтичен подход:

1. **Алогенна трансплантация на хемопоеични стволови клетки:**

- При наличие на съвместим родствен или неродствен донор, бласти в костния мозък <10% и възраст <50 год. - алогенна трансплантация със стандартни кондициониращи режими
- При пациенти между 50 - 65 год. без коморбидност алогенна трансплантация при немиелоаблативни кондициониращи режими

2. Индукционна химиотерапия за ОМЛ (съобразно възраст, статус, наличие или липсата на тежки придружаващи заболявания):

- При болни, подходящи за алогенна трансплантация, но без подходящ донор или
- При пациенти, при които е необходима редукция на процента на бластите в костния мозък (до <10%) преди подготовка за трансплантация

3. ДНК – метилтрансферазни инхибитори: 5-Azacitidine(AzaC) или Decitabine (5-aza-2'-deoxycytidine)(при възможност)

- При рецидив - Azacitidine, Decitabine или включване в клинични проучвания
- При болни, неподходящи за интензивна терапия - Azacitidine, Decitabine или включване в клинични проучвания

4. Поддържаща терапия

- При болни с клинично изяви цитопении, независимо от рисковата група или терапевтичния отговор

ЛЕЧЕНИЕ НА СИМПТОМАТИЧНАТА АНЕМИЯ ПРИ МДС

- При персистиране на изразен анемичен синдром - вливане на еритроцитни концентрати
- На болни - потенциални кандидати за трансплантация - вливане на CMV отрицателни еритроцитни концентрати (обезлевоцитени или облъчени)
- При 5q синдром със или без други цитогенетични аномалии - лечение с Lenalidomide
- Болни с <15% ринг-сидеробласти и серумен EPO ≤ 500 mU/ml – лечение

с: Рекомбинантен EPO 40 000 – 60 000 Е подкожно 1-3 пъти седмично или darbepoetin alfa 150-300 микрограма седмично. При отговор лечението продължава с постепенно намаляване дозите до минимално ефективните. При липса на отговор включване на G-CSF 1-2 mcg/kg 1-3 пъти седмично. Отговор се очаква на 6-8-та седмица. При отговор терапията продължава с постепенно намаляване на дозата до минимално ефективната. При липса на отговор лечението се спира и се продължава с поддържаща терапия или включване в клинични проучвания.

- При болни с $\geq 15\%$ Ринг-сидеробласти и/или серумен EPO ≤ 500 mU/ml – лечение с рекомбинантен EPO 40 000 – 60 000 Е подкожно 1-3 пъти седмично в комбинация с G-CSF 1-2 mcg/kg 2-3 пъти седмично или darbepoetin alfa 150-300 микрограма/седмично в комбинация с G-CSF 1-2 mcg/kg 1-3 пъти седмично. Отговор се очаква на 6-8-та седмица. При отговор терапията продължава с постепенно намаляване на дозата до минимално ефективната. При липса на отговор лечението се спира и се продължава с поддържаща терапия или включване в клинични проучвания.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Mufti GJ¹, Bennett JM, Goasguen J, Bain BJ, Baumann I, Brunning R, Cazzola M, Fenaux P, Germing U, Hellström-Lindberg E, Jinnaï I, Manabe A, Matsuda A, Niemeyer CM, Sanz G, Tomonaga M, Vallespi T, Yoshimi A; International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome. *Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. Haematologica. 2008 Nov;93(11):1712-1727.*
2. Volkert S, Kohlmann A, Schnittger S, et al. Association of the type of 5q loss with complex karyotype, clonal evolution, TP53 mutation status, and prognosis in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Genes, Chromosomes and Cancer* 2014, 53, (5): 402–410
3. Orazi A, Bennet JM, Germing U, Brunning R, Bain BJ, Thiele J, Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al, ed. *Chronic myelomonocytic leukaemia - WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Lyon 2008. p. 76–79.*
4. Greenberg P, Cox C, Le Beau MM et al. *International scoring system for evaluating prognosis in*

- myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997;89:2079-2088.
5. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J et al. Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R) for Myelodysplastic Syndrome, *Blood* 2012;120: 2454-2465
 6. Neukirchen J, Lauseker M., Blum S et al. Validation of the revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R) in patients with myelodysplastic syndrome: A multicenter study. *Leukemia Research* 2014, 2014, 38 (1): 57–64
 7. Judith Neukirchena, Corresponding author contact information, E-mail the corresponding author, Michael Lausekerb, Sabine Blumc, Aristoteles Giagounidisd, Michael Lübberte, Samuela Martinof, Sergio Siragusaf, Richard F. Schlenkg, Uwe Platzbeck
 8. P. Valent, H. Horny, J. Bennett, et al. Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: Consensus statements and report from a working conference, 2007 Jun;31(6):727-36.
 9. Jabbour1 E, Takahashi K,3, Wang X et al. Acquisition of cytogenetic abnormalities in patients with IPSS defined lower-risk myelodysplastic syndrome is associated with poor prognosis and transformation to acute myelogenous leukemia, *American Journal of Hematology* 2013, Volume 88, (10): 831–837
 10. Greenberg PL, Baer M, Bennett J et al. NCCN Practice Guidelines for Myelodysplastic Syndromes, Version1, 2001, In "The Complete Library of NCCN Guidelines [CD-ROM]," Rockledge, PA.
 11. G Metzgeroth, D Dinter, B Schultheis, et al. Deferasirox in MDS patients with transfusion-caused iron overload--a phase-II study. *Ann Hematol*, 2009 Apr;88(4):301-10.
 12. Silverman LR, Demakos EP, Peterson BL et al. Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome: A study of the CALGB. *J Clin Oncol* 2002;20:2429-2440.
 13. Fenaux P, Mufti GJ, Hellström-Lindberg E, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol*. 2009;10:223-232. [Epub 2009 Feb 21].
 14. Kantarjian H, Issa JP, Rosenfeld CS et al. Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes: results of a phase III randomized study. *Cancer*. 2006;106(8):1794-803
 15. List A, Kurtin S, Roe DJ et al. Efficacy of lenalidomide in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 2005;352(6):549-57.
 16. Raza A, Reeves JA, Feldman EJ, et al. Phase 2 study of lenalidomide in transfusion-dependent, low-risk, and intermediate-1 risk myelodysplastic syndromes with karyotypes other than deletion 5q. *Blood*. 2008;111:86-93.
 17. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 2011;364:2496-2506.
 18. Bowen DT, Hellström-Lindberg E and David P. Steensma Cardiac iron overload assessed by T2* magnetic resonance imaging and cardiac function in regularly transfused myelodysplastic syndrome patients. *British Journal of Haematology* 2014, 164, (4): 610–611
 19. Chronic Myelomonocytic Leukemia With Preexisting Myelodysplastic Syndrome Or Myeloproliferative Neoplasm: Two Stages Of One Disease With Poor Prognosis
 20. Yin Xu, Aine Yung, Brian Kwok, et al. Chronic Myelomonocytic Leukemia With Preexisting Myelodysplastic Syndrome Or Myeloproliferative Neoplasm: Two Stages Of One Disease With Poor Prognosis, *Blood* 2013, 122 (21): 1342-1349

БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ

ХРОНИЧНА МИЕЛОГЕННА ЛЕВКЕМИЯ PH(+)

Л. Герчева¹, Вл. Геров¹, И. Мичева¹, М. Генова², Г. Балаценко², В. Стоева², П. Георгиев³, В. Гркланов³, Г. Цветкова⁴, Н. Петкова⁵, Д. Тодориева⁶, М. Стефанова⁷

¹Клиника по хематология при УМБАЛ „Св. Марина“, Варна, ²Клиника по хематология, лаборатории по хистология и молекулярна биология при СБАЛХЗ, София, ³Клиника по хематология при УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив, ⁴Клиника по хематология при УМБАЛ „Александровска“, София, ⁵Клиника по хематология при ВМА, София, ⁶Клиника по хематология при УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен, ⁷Отделение по хематология при УМБАЛ, Стара Загора

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Миелопролиферативна неоплазия, изхождаща от абнормна плурипотентна стволова клетка, носеща специфичен BCR-ABL1 фузионен ген, разположен върху характерната за заболяването Филадельфийска хромозома (Ph⁺). BCR-ABL1 фузионният ген се установява във всички миелоидни линии и в някои лимфоидни и ендотелни клетки. Естественият ход на болестта включва 3 стадия: хроничен, на обостряне и бластен.

ЧЕСТОТА

Варира между 10 и 15 новодиагностицирани пациенти на 1 млн. население годишно.

ОБЩИ ДАННИ

Диагнозата ХМЛ се приема при:

- наличие на Филадельфийска хромозома в клетките от костния мозък и периферната кръв, резултат от реципрочна транслокация между хромозоми 9 и 22 t(9;22)(q3.4;q1.1)
- BCR-ABL1 фузионният ген, получен в резултат от реципрочната транслокация

води до производство на фузионни протеини: p210 (най-често), p190 и p230 (по-рядко); основна роля в патогенезата на ХМЛ има p210

- диагнозата може да се приеме при липса на типична Филадельфийска хромозома при стандартно изпълнена цитогенетика, когато чрез полимеразно-верижна реакция (PCR) или FISH се установят bcr/abl пренареждане

Задължителни изследвания при поставяне на диагнозата ХМЛ, определяне на лечението и проследяване на пациента (всички със степен на достоверност категория 2A):

1. Анамнеза, вкл. коморбидности.
2. Физикално изследване с определяне на статуса (по ECOG 0-4) и големина на слезката и черния дроб.
3. Ехографско определяне размера на слезката.
4. Периферна кръвна картина (ПКК), диференциална кръвна картина – мануално изброяване с акцент на процента бласти и базофили (ДКК).
5. Биохимия.

6. Костен мозък за морфологично изследване (акцент на процент бласти и базофили) и за цитогенетика - Филадельфийска хромозома (Ph⁺ хромозома) плюс търсене на допълнителни цитогенетични аномалии.
7. Качествено молекулярно-биологично изследване (PCR) за bcr/abl транскрипти при всички новодиагностицирани пациенти.
8. Трепанобиопсия.
9. Определяне на рисковата група според скалите на Sokal et al или Hasford et al (таблица 1).
10. HLA типизиране (изключват се контраиндицираните за алогенна трансплантация на стволови клетки пациенти); осъществява се при липса на отговор към лечение с I и II генерация тирозинкиназни инхибитори (ТКИ) след ново определяне на риска (табл.1).
11. Флоуцитометрия – използва се при фаза на обостряне или бластна трансформация.
12. Цитохимия (миелопероксидаза, неспецифична естераза, TdT) - при фаза на обостряне или бластна трансформация.

Критерии за диагностициране на ХМЛ в хронична фаза и характеристика на промените в периферната кръв и костния мозък:

- Левкоцитоза в периферната кръв (в редки случаи – нормален левкоцитен брой);
- Неутрофилия с наличие на две преобладаващи популации: миелоцити и сегментоядрени неутрофили;
- Бласти <10% в ПКК;
- Базофилия – разностепенна, базофили <20% в ПКК;
- Еозинофилия – често;
- Моноцитоза - установява се само в случаите с p190 BCR-ABL1 изоформа (ДД с ХММЛ);
- Тромбоцити: нормални или повишени, рядко намалени;
- Костен мозък - богат на гранулоцити,

с превалиране на миелоцити и еозинофилия, бласти <10%; редуцирани еритроидни острови; по-малки от нормалните мегакариоцити с хиполобулирани ядра; в 40 - 50% средностепенна мегакариоцитна пролиферация; в 30% - ретикулинова фиброза (свързва се с лоша прогноза); псевдо-Гоше клетки и „сини“ хистиоцити – вторична проява на усиления клетъчен оборот (произхождат от неопластичния клон);

- Спленомегалия от инфилтрация с гранулоцити.

Критерии за диагноза на ХМЛ в стадий на обостряне - акцелерираща фаза:

- Увеличен левкоцитен брой $>10 \times 10^9/\text{л}$, неотговарящ на провежданото лечение;
- 10% - 19% бласти в п.к./к.м.;
- ³ 20% базофили в п.к./к.м.;
- Тромбоцити $<100 \times 10^9/\text{л}$ (несвързано с лечението) или $>1\,000 \times 10^9/\text{л}$ (не отговарящи на лечението);
- Прогресираща спленомегалия или покачващ се левкоцитен брой, независимо от прилаганото лечение;
- Клонална еволюция, установена чрез цитогенетично изследване и свързана с поява на нови допълнителни аномалии.

Критерии за диагноза на ХМЛ във фаза на бластна трансформация:

- Бласти $\geq 20\%$ в периферната кръв, в костния мозък или и в двете;
- Екстрамедуларна бластна пролиферация (кожа, лимфни възли, слезка, кости, ЦНС и др.);
- Големи струпвания или клъстери от бласти в костно-мозъчната биопсия

В 70% бластната фаза е миелоидна и може да включва бласти от всички клонове на миелопоезата (най-често миелобластна).

В 20-30% бластната трансформация е лимфобластоидна, обикновено с В-фенотип, по рядко с Т-фенотип, много често с ко-експресия на миелоидни маркери.

Табл. 1 Определяне на риска в зависимост от

физикалните данни, ПКК и ДКК (категория 2А):

Система за определяне на риска	Начин на калкулиране*	Определяне на риска
Sokal et al, 1984	$0,116 \times (\text{год.- } 43,4) + 0,0345 \times (\text{слезка} - 7,51) + 0,188 \times (\text{Тр} \div 700)^2 - 0,563) / + 0,0887 \times (\text{миелобласти} - 2,1)$	Нисък <0.8 Среден 0.8 – 1.2 Висок >1.2
Hasford et al, 1998	0,666 при възраст ≥ 50 г.+ (0,042 х слезка под р. дъга) +1,0956 при Тр брой ≥ 1500 + (0,0584 х миелобластите) + 0,20399 при базофили > 3% + (0,0413 х еозинофили)	Нисък ≤ 780 Среден 781 – 1480 Висок >1480

*Калкулирането се осъществява автоматично чрез следния сайт: <http://www.icsg.unibo.it/rrcalc.asp>

Рискът може да се определи според големината на слезката и процентът базофили в периферната кръв on line – **EUTOS score**

http://www.leukemia-net.org/content/leukemias/cml/eutos_score/index_eng.html

ЛЕЧЕНИЕ НА ХМЛ

Подготовка на пациентите за лечение с тирозин-киназни инхибитори (ТКИ)

- Информация на пациента
- Запазване на фертилността: мъже – замразяване на сперма
- Жени – контрацепция
- Определяне на риска (табл.1)

Лечение на новооткрита ХМЛ в хронична фаза – осъществява се с тирозин-киназни инхибитори (степен на достоверност за всички -категория I):

- Imatinib – 400 мг./дн. еднократно, прием по време на хранене

или

- Nilotinib – 2 x 300 мг./дн. прием на гладно (най-малко 2 часа след и 1 час преди хранене)

или

- Dasatinib – 100 мг./дн. прием еднократно дневно, независимо от хранителния режим

Изборът на I линия лечение се определя според риска и очакваната преживяемост (табл.2)

Табл. 2 Принципи на избор на I линия лечение с ТКИ

Степен на риск според скалата на Sokal et al	Избор на ТКИ при очаквана преживяемост <15 години	Избор на ТКИ при очаквана преживяемост >15 години
<u>Висок</u> >1.2	Nilotinib/Dasatinib	Nilotinib/Dasatinib
<u>Среден</u> 0.8 – 1.2	Nilotinib/Dasatinib или Imatinib	Nilotinib/Dasatinib
<u>Нисък</u> <0.8	Imatinib	Nilotinib/Dasatinib или Imatinib

Критерии за отговор към лечението при хронична миелогенна левкемия:

Терапевтичният отговор при лечение с тирозин-киназни инхибитори се дефинира на 3 нива – хематологичен, цитогенетичен и молекулярен, като конкретния отговор отразява подхода, използван за оценка на резидуалната левкемична популация (табл.3).

Хематологичен отговор – отразява нормализиране на стойностите на хематологичните показатели в периферната кръв и размера на слезката.

Цитогенетичен отговор – отразява относителния дял на резидуалните Ph(+) метафази при изследване на не по-малко от 20 метафази в костния мозък.

Молекулярен отговор – отразява относителния дял на резидуалните BCR-ABL транскрипти в клетки от периферна кръв или костен мозък, определени чрез количествена RT-PCR в реално време, като резултатът се представя като съотношение между фузионните транскрипти BCR-ABL спрямо нормални транскрипти (ABL или международно признати контролни транскрипти) в проценти по международната скала [International Scale (IS)].

Табл.3 Дефиниция и мониториране на ремисията при ХМЛ

	Дефиниция	Мониториране
Хематологичен отговор (пълнен хематологичен отговор)	Тромбоцити $<450 \times 10^9/l$, Левкоцити $<10 \times 10^9/l$, ДКК-липсват млади гранулоцити, базофили $<5\%$, Липсва палпируема слезка	Изследва се при диагностициране, след това на всеки 15 дни до постигане на пълна хематологична ремисия, след това на всеки 3 месеца
Цитогенетичен отговор (CyR): Пълна (CCyR) Частична (PCyR) Малка (MCyR) Минимална Липсва	Липсват Ph'+ метафази 1 – 35% Ph'+ метафази 36 – 65% Ph'+ метафази 66 – 95% Ph'+ метафази >95% Ph'+ метафази	Цитогенетика се осъществява при диагностицирането, на 3-тия и 6-тия месец, след това на всеки 6 месеца до постигане и потвърждаване на пълна цитогенетична ремисия, после на всеки 12 месеца при невъзможност за молекулярно мониториране.
отговор (МО) Голям МО МО 4.0 МО 4.5 МО 5.0	BCR-ABL/ABL $\leq 0.1\%$ RT-PCR(+) с BCR-ABL/ABL $<0.01\%$ (IS) или RT-PCR(-) при наличие $>10,000$ ABL1 транскрипта RT-PCR(+) с BCR-ABL/ABL с $<0.0032\%$ (IS) или RT-PCR(-) при наличие $>32,000$ ABL1 транскрипта RT-PCR(+) с BCR-ABL/ABL с $<0.001\%$ (IS) или RT-PCR(-) при наличие $>100,000$ ABL1 транскрипта	RT-Q-PCR: Изследва се след постигане на цитогенетичен отговор, на всеки 3 месеца до постигане на голям молекулярен отговор, след това през 6 месеца Мутационен анализ: Провежда се при поява на субоптимален отговор или загуба на отговор, изисква се преди преминаване към втора линия ТКИ

- Всеки белег на загуба на хематологичен или цитогенетичен отговор се дефинира съответно като хематологичен или цитогенетичен рецидив.
- Нарастването на нивото на BCR-ABL транскриптите с 1 лог (10 пъти), придружено със загуба на голям МО изисква незабавно изследване на костен мозък за евентуална загуба на пълен цитогенетичен отговор, но само по себе си не се дефинира като рецидив.
- При нарастване на нивото на BCR-ABL транскриптите с 0,5 лог (>5 пъти) при единично изследване и ако това е съпроводено със загуба на голям МО, то трябва да се повтори след по-кратък интервал от време от обичайния (1-3 месеца) и пациентът следва да бъде разпитан за комплайнс.

ПРОСЛЕДЯВАНЕ ЕФЕКТА ОТ ЛЕЧЕНИЕ С ТКИ

1. 3-ти месец от лечение с ТКИ

Първа оценка на отговора от началото на лечението: изследване на ПКК, ДКК, биохимия, костен мозък за цитогенетика, BCR-ABL1 транскрипти (категория на достоверност IIA):

- При BCR-ABL1 транскрипти $\leq 10\%$ или парциален цитогенетичен отговор - продължаване на лечението със същия продукт в същата доза
- При BCR-ABL1 транскрипти $> 10\%$ или <парциален цитогенетичен отговор в костния мозък – проверка на комплайанса на пациента, търсене на лекарствени взаимодействия с други медикаменти, мутационен анализ (при възможност):
 - При доказване на сензитивна мутация – избор на ТКИ според чувствителността ѝ
 - При липса на чувствителност към първоначално лечение с Imatinib, увеличаване на дозата му (при противопоказания от приложение на II генерация ТКИ) или стартиране на Nilotinib – 2 x 400 мг./дн или Dasatinib – 100 мг./дн.

- При първоначално лечение с Dasatinib – 100 мг./дн. или Nilotinib – 2 x 300 мг./дн – продължаване на лечението и нова преоценка на 6-ти месец или клинично изпитване.

2. 6-ти месец от лечение с ТКИ

Оценка на отговора към лечение с ТКИ: изследване на ПКК, ДКК, биохимия, BCR-ABL1 транскрипти (категория на достоверност IIA):

- При BCR-ABL1 транскрипти $\leq 1\%$ или пълен цитогенетичен отговор продължаване на лечението със същия продукт в същата доза
- При BCR-ABL1 транскрипти 1-10% или парциален цитогенетичен отговор в костния мозък (Ph+ 1–35%) – проверка на комплайанса на пациента, търсене на лекарствени взаимодействия с други медикаменти
- При BCR-ABL1 транскрипти $> 10\%$ или <парциален цитогенетичен отговор в костния мозък (Ph+ $> 35\%$) – проверка на комплайанса на пациента, търсене на лекарствени взаимодействия с други медикаменти, мутационен анализ:
 - Смяна на ТКИ с алтернативен (изключва се Imatinib) **или** клинично изпитване **или** подготовка за евентуална алогенна трансплантация

3. 12-ти месец от лечение с ТКИ

Оценка на отговора към лечение с ТКИ: изследване на ПКК, ДКК, биохимия, количествен PCR за bcr/abl транскрипти; костен мозък за цитогенетика при липса на пълен цитогенетичен или голям молекуларен отговор (категория на достоверност IIA):

- При BCR-ABL1 транскрипти $\leq 0.1\%$ - продължаване на лечението със същите дози на Imatinib, Nilotinib или Dasatinib
- При BCR-ABL1 транскрипти 0.1-1%: продължаване на лечението със същите дози на Imatinib, Nilotinib или Dasatinib или повишаване дозата на Imatinib до 800 мг./дн.
- При BCR-ABL1 транскрипти $> 1\%$ или Ph+ > 0 – неуспех от лечението: проверка на комплайанса на пациента, търсене на лекарствени взаимодействия с други медикаменти, мутационен анализ;

преминаване на Dasatinib – 100 мг./дн. или Nilotinib – 2 x 400 мг./дн или оценка за трансплантация на стволови клетки (ТСК) при неуспех от втора линия лечение или участие в клинично изпитване.

4. Оценка на отговора към лечение с ТКИ след 12-ти месец от началото на лечението, провежда се на всеки 3-6 месеца: изследване на ПКК, ДКК, биохимия, PCR за bcr/abl транскрипти, костен мозък (при загуба на молекуларен отговор) (категория на достоверност IIA)
- Голям молекуларен отговор: продължаване на лечението със същите дози на Imatinib, Nilotinib или Dasatinib
- Пълен цитогенетичен отговор без голям молекуларен отговор – субоптимален отговор: продължаване на лечението със същите дози на Imatinib, Nilotinib

или Dasatinib още 4 месеца и при липса на отговор – алтернативен ТКИ, комбиниране на ТКИ с Интерферон, участие в клинично изпитване

- Загуба на цитогенетичен или на молекуларен отговор: проверка на комплайанса на пациента, търсене на лекарствени взаимодействия с други медикаменти, мутационен анализ; преминаване към алтернативен ТКИ или оценка за трансплантация на стволови клетки (ТСК) при неуспех от втора линия лечение или участие в клинично изпитване.

Показания за подмяна на използваия ТКИ:

- При доказана неефективност (виж табл.4)
- При непоносимост към изобрания за първо лечение ТКИ

Табл. 4 Оценка на отговора към лечение с ТКИ (ELN, Vasscarani M et al 2013)

Време след диагнозата	Оптимален отговор	Зона на внимание	Липса на отговор (неуспех от лечението)
3-ти месец	BCR-ABL1 ≤10% и/или Ph+ <35%	BCR-ABL1 >10% и/или Ph+ 36-95%	Липса на CHR и/или Ph+ >95%)
6 месеца	BCR-ABL1 ≤1% и/или Ph+0	BCR-ABL1 1-10% и/или Ph+ 1-35%	BCR-ABL1 >10% и/или Ph+ >35%
12 месеца	BCR-ABL1 ≤0,1%	BCR-ABL1 0,1-1%	BCR-ABL1 >1% и/или Ph+ >0
>12 месеца	BCR-ABL1 ≤0,1%	CCA/Ph- (-7, 7q-)	Загуба на CHR или CCyR, доказана загуба на MMR, CCA/Ph+мутации

CCA/Rh+ клонални хромозомни аномалии в Rh+ клетки

CCA/Rh- клонални хромозомни аномалии в Rh- клетки

CCyR – пълен цитогенетичен отговор

CHR – пълен хематологичен отговор

ELN – Европейска левкемична мрежа

MMR – голям молекуларен отговор

Лечение на ХМЛ във фаза на обостряне (категория на достоверност IIA)

Dasatinib – 100 мг./дн. или Nilotinib – 2 x 400 мг./дн или оценка за трансплантация на стволови клетки (ТСК) или участие в клинично изпитване.

Лечение на ХМЛ във фаза на бластна трансформация (категория на достоверност IIA)

- При миелоидна бластна криза

ОМЛ индукционен режим + ТКИ*, последван от алогенна ТСК (ако е възможна) **или**

клинично изпитване

- **При лимфобластна криза**

ОЛЛ индукционен режим + ТКИ*, последван от алогенна ТСК (ако е възможна) или

клинично изпитване

*Изборът на ТКИ зависи от предшестващото лечение и резултата от мутационния анализ

ХРОНИЧНА МИЕЛОГЕННА ЛЕВКЕМИЯ И БРЕМЕННОСТ

- При установяване на бременност се спира лечението с ТКИ
- При диагностициране на ХМЛ по време на бременност, повишеният левкоцитен брой се редуцира чрез левкафереза.
- След първия триместър може да се започне лечение с интерферон
- След раждането се започва лечение с ТКИ в стандартни дози

ИЗСЛЕДВАНЕ ЗА МУТАЦИИ В BCR-ABL

- Мутации в киназния домен на BCR-ABL се доказват в около 50% от пациентите с ХМЛ, лекувани с рутинно използваните тирозин-киназни инхибитори, при които се наблюдава неуспех от провежданата терапия и прогресия на заболяването.
- Смята се, че появата на тези мутации е една от основните причините за отсъствието на ефект от прилагането на тирозин-киназни инхибитори при ХМЛ.
- До момента са описани над 80 замествания на аминокиселини, свързани с резистентност към Imatinib. Броят на мутациите, водещи към резистентност към Dasatinib и Nilotinib е значително по-малък, като при резистентност към Nilotinib най-често се доказват мутациите Y253H, E255K/V, F359V/C/I, или T315I, докато при резистентност към Dasatinib - V299L, F317L/V/I/C, T315A, или T315I.
- С най-голямо значение за клиничната практика е мутацията T315I, която е свързана с абсолютна резистентност

към рутинно използваните в практиката ТКИ – Imatinib, Dasatinib, Nilotinib и Bosutinib и е чувствителна към Ponatinib

Скрининг за мутации се препоръчва:

1. По време на хронична фаза

- При всички пациенти с неадекватен начален отговор – отсъствие на парциален цитогенетичен отговор или BCR-ABL $\leq 10\%$ (IS) на 3-ия и 6-ия месец или отсъствие на пълен цитогенетичен отговор на 12-ия и 18-ия месец.
- При загуба на отговор (дефиниран хематологичен или цитогенетичен рецидив).
- Нарастване с 1-лог на нивото на BCR-ABL транскрипти и загуба на голям молекулярен отговор.

2. При прогресия на заболяването в акцелерирана фаза или бластна криза

3. При превключване на лечението с нов тирозин-киназен инхибитор.

При невъзможност за провеждане на секвениране за търсене на всички възможни мутации, клиничният минимум включва скрининг за мутацията T315I.

Табл. 5 Мутации и тяхната чувствителност към лечение с различни видове ТКИ

		IC ₅₀ fold increase (WT = 1)			
		Bosutinib	Imatinib	Dasatinib	Nilotinib
	Parental	38.31	10.78	> 50	38.43
	WT	1	1	1	1
P-LOOP	L248V	2.97	3.54	5.11	2.80
	G250E	4.31	6.86	4.45	4.56
	Q252H	0.81	1.39	3.05	2.64
	Y253F	0.96	3.58	1.58	3.23
	E255K	9.47	6.02	5.61	6.69
	E255V	5.53	16.99	3.44	10.31
C-Helix	D276G	0.60	2.18	1.44	2.00
	E279K	0.95	3.55	1.64	2.05
ATP binding region (drug contact sites)	V299L	26.10	1.54	8.65	1.34
	T315I	45.42	17.50	75.03	39.41
	F317L	2.42	2.60	4.46	2.22
SH2-contact	M351T	0.70	1.76	0.88	0.44
Substrate binding region (drug contact sites)	F359V	0.93	2.86	1.49	5.16
	L384M	0.47	1.28	2.21	2.33
A-LOOP	H396P	0.43	2.43	1.07	2.41
	H396R	0.81	3.91	1.63	3.10
	G398R	1.16	0.35	0.69	0.49
C terminal lobe	F486S	2.31	8.10	3.04	1.85

Sensitive	≤ 2
Moderately resistant	2.01-4
Resistant	4.01-10
Highly resistant	> 10

БИБЛИОГРАФИЯ

1. M. Baccarani, J. Cortes, F. Pane, et al. Chronic Myeloid Leukemia: An Update of Concepts and Management Recommendations of European LeukemiaNet. *Clin. Oncol.*, 2009; 27(35): 6041 - 6051.
2. Pavlovsky C, Kantarjian H., Cortes JE. First-line therapy for chronic myeloid leukemia: Past, present, and future. *American Journal of Hematology* 2009; 84, (5): Date: 287-293
3. Goldman JM. Initial treatment for patient with CML. *Hematology* 2009:453-460
4. Hochhaus A, O'Brien SG, Guilhot F et al. Six year follow-up of patients receiving imatinib for the first line treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2009;213:1054-1061
5. Bixby D, Talpaz M. Mechanisms of resistance to tyrosin kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia and recent therapeutic strategies to overcome resistance. *Hematology* 2009: 461-476
6. Goldman J.M. Chronic Myeloid Leukemia: Reversing the Chronic Phase. *J. Clin. Oncol.*, 2010; 28(3): 363 - 365.
7. R. J. Garg, H. Kantarjian, S. O'Brien, et al. The use of nilotinib or dasatinib after failure to 2 prior tyrosine kinase inhibitors: long-term follow-up, *Blood*, 2009; 114(20): 4361 - 4368.
8. Paladri E, Castagnetti F, Alimena G, et al. The long term durability of cytogenetic response in patients with accelerated phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib 600 mg: the GLIMEMA CML Working Party experience after 7-years follow up. *Haematologica* 2009 DOI: 10.3324/hematol.13529
9. Hughes TP, Branford S. Monitoring disease response to tyrosin kinase inhibitor therapy in CML. *Hematology* 2009: 477487
10. Marin D, Milojkovic D, Olavarria E, et al. European LeukemiaNet criteria for failure or suboptimal response reliably identify patients with CML in early chronic phase treated with imatinib whose eventual outcome is poor. *Blood*. 2008 Dec 1;112(12):4437-44.
11. Milojkovic D, Nicholson E, Apperley JF et al. Early prediction of success or failure of treatment with second-generation tyrosine kinase inhibitors in patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica*, 2010, 95, (2): 224-231
12. Branford S, Melo JV and Hughes TP. Selecting optimal second-line tyrosine kinase inhibitor therapy for chronic myeloid leukemia patients after imatinib failure: does the BCR-ABL mutation status really matter?. *Blood*. 2009;114:5426-5435.
13. Milojkovic D, Nicholson E, Apperley JF, et al. Early prediction of success or failure of treatment with second-generation tyrosine kinase inhibitors in patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica*. 2010;95:224-231
14. Saussele S, Lauseker M, Gratwohl A, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo SCT) for chronic myeloid leukemia in the imatinib era: evaluation of its impact within a subgroup of the randomized German CML Study IV. *Blood*. 2010;115:1880-1885.
15. Cortes JE, Jones D, O'Brien S, et al. Results of dasatinib therapy in patients with early chronic-phase chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28:398-404.
16. Cortes JE, Jones D, O'Brien S, et al. Nilotinib as front-line treatment for patients with chronic myeloid leukemia in early chronic phase. *J Clin Oncol*. 2010;28:392-397.
17. Shah NP, Kim DW, Kantarjian H, et al. Potent, transient inhibition of BCR-ABL with dasatinib 100 mg daily achieves rapid and durable cytogenetic responses and high transformation-free survival rates in chronic phase chronic myeloid leukemia patients with resistance, suboptimal response or intolerance to imatinib. *Haematologica*. 2010;95:232-240.
18. Baccarani M., Pileri S., Steegmann JL et al. Chronic myeloid leukemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up *Annals of Oncology* 2012; 23(7):72-77
19. Baccarani M. Deininger M W, Rosti G et al. *Blod* 2013;122(6):872-884
20. Uz B, Buyukasik Y, Atay H et al. EUTOS CML prognostic scoring system predicts ELN-based 'event-free survival' better than Euro/Hasford and Sokal systems in CML patients receiving front-line imatinib mesylate. *Hematology* 2013;18(5):247-252
21. NCCN Clinical Practice Guidelines, 2014

БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ

ПОЛИЦИТЕМИЯ ВЕРА (PV)

Л. Герчева¹, Вл. Геров¹, И. Мичева¹, М. Генова², Г. Балаценко², В. Сроева², П. Георгиев³, В. Гркланов³, Г. Цветкова⁴, Н. Петкова⁵, Д. Тодориева⁶, М. Стефанова⁷

¹Клиника по хематология при УМБАЛ „Св. Марина“, Варна, ²Клиника по хематология, лаборатории по хистология и молекулярна биология при СБАЛХЗ, София, ³Клиника по хематология при УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив, ⁴Клиника по хематология при УМБАЛ „Александроска“, София, ⁵Клиника по хематология при ВМА, София, ⁶Клиника по хематология при УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен, ⁷Отделение по хематология при УМБАЛ, Стара Загора

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Хронична миелопролиферативна неоплазия (ХМПН), характеризираща се с повишена продукция предимно на еритроцити, която е автономна и не се потиска от нормалните регулаторни механизми. Последното я отличава от вторичната еритроцитоза (табл.2).

Фази на развитие на заболяването

1. Продромална, пре-полицитемична фаза – характеризира се с лекостепенна еритроцитоза, близка до горната референтна граница за съответния пол
2. Разгърната полицитемична фаза
3. Пост-полицитемична миелофиброза
4. В по-редки случаи заболяването еволюира до миелодисплазия или остра миелоидна левкемия.

ЕПИДЕМИОЛОГИЯ

Честота 0,7 - 2,6/100 000 население годишно.
Средна възраст - около 60 г.

КЛАСИФИКАЦИЯ

СЗО 2008

ДИАГНОЗА

Анамнеза

Главоболие, световъртеж, нарушения в зрението, парестезии, сърбеж, еритромелалгия, подагра.

Клиничен преглед

Плетора, спленомегалия, хепатомегалия, данни за тромбоза.

Изследвания за поставяне на прецизна диагноза

- Изследване на периферните кръвни показатели с кръвна натривка и морфология
- Изследване на костен мозък (аспирация с цитогенетика и трепанобиопсия)
- Ултразвуково изследване на коремни органи с прицел върху големината на слезката и черния дроб
- Изследване на артериалната кислородна сатурация

- Изследване на нивото на еритропоетин – извършва се преди флеботомия
- Молекулярно-генетично изследване на периферна кръв за BCR-ABL1, JAK2V617 или ехон 12 мутации (при възможност)
- Изследване на ендегенното еритроидно колонии формиране (ин витро)

Морфологични промени в костния мозък

1. При пре-полицитемична фаза и фаза на разгърната полицитемия – хиперцелуларитет, повишен целуларитет в субкортикалното пространство, панмиелоа (в разгърнатия стадий); несигнификантни нарушения в мегакариоцитите; нормален ретикулин.
2. Пост-полицитемична миелофиброза – прогресивно потискане на еритропоезата; разрастване на

ретикулин, колагенова фиброза; възможно е да се получи значимо хипоцелуларен трепанат. При нарастване на бластите над 10% се приема прогресия към фаза на акцелерация, а при повече от 20% - към ОМЛ.

Генетика

JAK2V617F в >95% от болните (не е специфичен само за PV); JAK2 мутация в екзон 12; хромозомни цитогенетични аномалии – в 20%(+8, +9, del(20q), del(13q), del(9p).

Диагностични критерии за PV (табл.1)

Диагнозата изисква наличие на двата големи критерия плюс един малък критерий или присъствие на първия голям критерий плюс два малки критерия.

Табл. 1 Диагностични критерии за PV

Големи критерии:

1. Хемоглобин над 185 г/л (мъже) и 165 г/л (жени) или други критерии за увеличаване на еритроцитния обем*
2. Наличие на JAK2 V617F или друга мутация като JAK2 екзон 12 мутация

Малки критерии:

1. Костно мозъчна биопсия, показваща хиперцелуларитет за възрастта с трилинеарен растеж (панмиелоа) и с видима еритроидна, гранулоцитна и мегакариоцитна пролиферация.
2. Серумен еритропоетин под референтните граници за съответния пол
3. Ин витро ендегенно еритроидно колонииобразуване.

**Хемоглобин или хематокрит над 99-ти персентил от нормалните граници за възрастта и пола, изследвани чрез съответния специфичен метод или хемоглобин над 170 г/л (мъже) и 150 г/л (жени) ако е асоцииран с документирано нарастване с най-малко 20 г/л от индивидуалното ниво, което не е свързано с корекция на железен дефицит; или нарастване на еритроцитната маса > 25% от обичайното ниво.*

При поставяне на диагнозата трябва да се отхвърлят всички причини за развитие на вторична еритроцитоза, посочени на табл. 2

Табл. 2 Причини за вторична еритроцитоза

Релативна еритроцитоза при загуба на течности от съдовото пространство: Повръщане, диария, диуретици, обилно потене, полиурия, хипоалбуминемия, хиподипсия, изгаряния, перитонит, синдром на повишена капилярна пропускливост
Релативна еритроцитоза при намаляване на плазмения обем: Хипоксия, лечение с андрогени, лечение с рекомбинантен еритропоетин, хипертония, тютюнопушене, феохромоцитом, алкохолизъм, апнея по време на сън
Вторични еритроцитоза при: - Хипоксия: интоксикация с CO, патологични хемоглобини с висок афинитет, високо планинска болест, белодробно заболяване, десен сърдечен шънт, синдром на апнея по време на сън, неврологични заболявания - Бъбречни заболявания: Стеноза на реналната артерия, мембранозен гломерулонефрит или огнищна склероза, бъбречна поликистоза, бъбречна трансплантация - Тумори: хипернефром, хепатом, малко мозъчен хемангиобластом, фибромиома на матката, тумори на надбъбреците, менингеома, феохромоцитом - Медикаменти: андрогенни стероиди, рекомбинантен еритропоетин - Фамилна еритроцитоза: 2,3 Дифосфоглицерат дефицит, мутации в EPO рецептора, с-м на Chuvash

КРИТЕРИИ ЗА ВТОРИЧНА МИЕЛО- ФИБРОЗА СЛЕД ПОЛИЦИТЕМИЯ ВЕРА:

Основни критерии, необходими за приемане на диагнозата (изискват се и двата):

1. Документирана предшестваща PV, дефинирана по критерии на СЗО 2008.
2. Костно-мозъчна фиброза степен 2 - 3 (по скала 0 – 3) или степен 3 – 4 (по скала 0 – 4).

Допълнителни критерии (изискват се 2):

1. Анемия или продължителна липса на необходимост от флеботомия (при липса на циторедуктивна терапия), или липса на необходимост от циторедуктивна терапия за еритроцитозата.
2. Левко-еритробластна периферна кръвна картина.
3. Нарастване на спленомегалията, дефинирано или като нарастване на палпируемата слезка на >5 см. под ребрената дъга или поява на новопалпируема слезка.
4. Поява на 1 от 3-те конституционални симптома: >10% загуба на тегло

за последните 6 месеца, нощни изпотявания, необяснима температура (>37,5°C).

ЛЕЧЕНИЕ НА PV

Цели на лечението

1. Да се редуцира рискът от тромбози и хеморагии.
2. Да се минимализира рискът от трансформация в остра левкемия, МДС или миелофиброза.
3. Да се овладеят получените вече усложнения, вкл. тромбози, хеморагии и сърбеж.
4. Лечение по време на бременност.

Основният фактор за усложнения и смърт при PV са тромбозите. Тяхната честота може да се редуцира ако тромбоцитният брой се поддържа под $400 \times 10^9/\text{л}$, а $\text{Ht} < 0,45$ при мъже и $< 0,42$ при жени.

Оценка на риска от тромбози (табл.3) (IVC)

- Пациентите трябва да се скринират за хипертония, хиперлипидемия, конгестивна сърдечна недостатъчност, захарен диабет и тютюнопушене

- Всички фактори, довеждащи до развитие на ранна атеросклероза трябва да се третират медикаментозно, пациентът да преустанови тютюнопушенето

Табл. 3 Категории риск при PV

Категория риск	Възраст > 65 г. или анамнеза за тромбоза	Наличие на сърдечно-съдов рисков фактор*
Нисък риск	Не	Не
Междинен риск	Не	Да
Висок риск	Да	Да/Не

*хипертония, хиперхолестеролемия, захарен диабет, тютюнопушене, конгестивна сърдечна недостатъчност

МЕТОДИ НА ЛЕЧЕНИЕ НА PV

1. Венесекция – първа линия лечение (категория IA). Осъществява се в болнично заведение (може в условия на дневна терапия).

- Цел: да се поддържа Ht < 0,45 (IIA).
- Извършва се през ден за първата седмица, два пъти седмично за втората седмица и веднаж седмично след това, докато се постигне идеалното ниво на хематокрита (< 0,45 за мъже и < 0,42 за жени).
- Предхожда се от интравенозно въвеждане на 5 хил. ед. хепарин.
- Кръвопускат се 400 мл кръв, следва заместване с 500 ml. физиологичен серум.
- Вслучаи, при които до третата седмица не се постигне идеалния хематокрит се предприема циторедукция с хидроксурея или интерферон.
- При болни с исхемична болест или хронични белодробни заболявания флеботомията се извършва с внимание – 2 пъти седмично и/или по-малки количества кръв.

2. Аспирин 75 – 100 мг/дн - значимо редуцира процента на сърдечно-съдовите усложнения и тромботичните усложнения (IIA). При пациенти с гастритни прояви **клопидогрел (Plavix) 75 мг/дн**

3. Циторедуктивна терапия (IIC) – прилага се при:

- лоша поносимост към венесекция (колапс, продължителна хипотония и др.)
- симптоматична или прогресираща спленомегалия
- други данни за прогресия на заболяването: загуба на тегло, нощни изпотявания
- значима, съпътстваща тромбоцитоза и левкоцитоза $\geq 20 \times 10^9/\text{л}$

Избор на циторедуктивна терапия според възрастта:

- Пациенти < 40 г.: I-ва линия Interferon- α или пегилиран интерферон, II-ра линия Hydroxycarbamide (IIA), III-та линия Anagrelide
- Пациенти 40 – 75 г.: I-ва линия Hydroxycarbamide (IIA), II-ра линия Interferon- α (IIC) III-та линия Anagrelide
- Пациенти > 75 г.: I-ва линия Hydroxycarbamide, II-ра линия ^{32}P или интермитентно ниски дози Busulphan (IIC)

Интерферон-алфа се прилага в ниски дози: $3,0 \times 10^6 \text{ IU}$ 3 пъти седмично

Хидроксуреята се дозира индивидуално според броя на еритроцитите и тромбоцитите (средно от 1000 до 2000 mg/дневно)

Избор на лечение според групата риск

1. Нисък риск: венесекция плюс ниски дози Аспирин (A)
2. Междинен и висок риск: венесекция плюс ниски дози Аспирин (A) плюс Hydroxycarbamide (IIA); при пациенти под 40 г. и жени в детеродна възраст: Interferon-α (IIC); при много възрастни пациенти: ³²P или интермитентно ниски дози Busulphan (IIIC)

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Johansson P. Epidemiology of the myeloproliferative disorders polycythaemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost.* 2006; 32:171-173
2. Marchioli R, Finazzi G, Landolfi R, et al. Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. *J Clin Oncol.* 2005; 23:2224-2232
3. McMullin MF, Bareford D, Campbell P, et al. Guidelines for the diagnosis, investigation and management of polycythemia/erythrocytosis. *Br J Haematol.* 2005;130:174-195
4. Tefferi A. The diagnosis of polycythemia vera: new tests and old dictums. *Best pract Res Clin Haematol.* 2006;19:455-469
5. Thiele J, Kvasnicka HM. Diagnostic impact of bone marrow histopathology in polycythemia vera (PV). *Histol, Histopathol.* 2005;20:317-328
6. Swerdlow SH, Campo E, Lee Harris N, et al (eds). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues* (4-th edition), IARC, 2008, 40-43
7. Landolfi R, Marchioli R. Efficacy and Safety of Low-dose Aspirin in Polycythaemia Vera : *N Eng J Med* 2004;350:114-24.
8. Zhan H, Spivak JL. The diagnosis and management of Polycythemia vera, Essential Thrombocythemia and Primary Myelofibrosis in the JAK2 V517F Era. *Clin Adv in Hematol&Oncol.* 2009;7(5):334-342
9. Marchioli R, Finazzi G, Specchia G, et al.: Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N Engl J Med* 2013; 368 (1): 22-33
10. Saini KS, Patnaik MM, Tefferi A. "Polycythemia vera-associated pruritus and its management". *Eur J Clin Invest* 2010; 40 (9): 828-34
11. Mayo Clinic staff. "Polycythemia vera - MayoClinic.com". Polycythemia vera: Definition. Mayo Clinic. Retrieved 2011-09-03
12. Passamonti F. How I treat polycythemia vera. *Blood.* 2012 Jul 12;120(2):275-84. doi: 10.1182/blood-2012-02-366054. Epub 2012 May 18.

БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ

ЕСЕНЦИАЛНА ТРОМБОЦИТЕМИЯ (ЕТ)

Л. Герчева¹, Вл. Геров¹, И. Мичева¹, М. Генова², Г. Балаценко², В. Стоева², П. Георгиев³, В. Гркланов³, Г. Цветкова⁴, Н. Петкова⁵, Д. Тодориева⁶, М. Стефанова⁷

¹Клиника по хематология при УМБАЛ „Св. Марина“, Варна, ²Клиника по хематология, лаборатории по хистология и молекулярна биология при СБАЛХЗ, София, ³Клиника по хематология при УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив, ⁴Клиника по хематология при УМБАЛ „Александроска“, София, ⁵Клиника по хематология при ВМА, София, ⁶Клиника по хематология при УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен, ⁷Отделение по хематология при УМБАЛ, Стара Загора

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Хронична миелопролиферативна, Филадельфия-негативна неоплазия, засягаща предимно тромбоцитопоезата и изразяваща се с тромбоцитоза в периферната кръв (тромбоцити $>450 \times 10^9/l$), увеличен брой на големи, зрели мегакариоцити в костния мозък и клинична картина на тромбози и/или хеморагии.

ЕПИДЕМИОЛОГИЯ

Честота 0,6 - 2,5/100 000 население годишно.

КЛАСИФИКАЦИЯ

СЗО 2008

ДИАГНОЗА

Анамнеза

Изключване на реактивна тромбоцитоза или друго заболяване, протичащо с повишен тромбоцитен брой: ХМЛ с тромбоцитоза, МДС - 5q синдром, рефрактерна анемия с ринг сидеробласти и тромбоцитоза (РАРС-т),

префибротична фаза на първичната миелофиброза (табл.2).

Изследвания за поставяне на диагнозата и определяне на риска

- Пълна кръвна картина с диференциално броене
- Ниво на серумен феритин (за изключване на тромбоцитоза при железен дефицит)
- Костно-мозъчна аспирация и биопсия
- Цитогенетика
- Ултразвуково изследване на коремни органи с прицел върху големината на слезката и черния дроб
- Молекулярно-генетично изследване на периферна кръв за JAK2 мутации (регистрира се в 50% от случаите) и BCR-ABL
- Данни за хиперкоагулационен статус (мутация на фV, мутация на протромбин 20210, лупусен антикоагулант, антифосфолипидни антитела, протеин С и протеин S дефицит)
- Ин витро спонтанно формиране на мегакариоцитни и /или еритроидни колонии (при необходимост)

Табл. 1 Критерии на СЗО (2008 г.) за поставяне на диагнозата ЕТ (диагнозата изисква присъствие на всичките 4 критерия)

1. Тромбоцитен брой $> 450 \times 10^9/l$.
2. Данни от костно-мозъчната биопсия за пролиферация предимно на мегакариоцитите, с увеличен брой на големи, зрели мегакариоцити. Не се установява значимо нарастване на еритроцитопоезата и гранулоцитопоезата, както и олевяване.
3. Не се покриват критериите за приемане на следните диагнози: ПВ, ПМФ, ХМЛ, МДС или други миелоидни неоплазии.
4. Наличие на JAK2 V617F мутация или друг маркер за клоналност (MPL- в 10% от случаите). При липсата им – да се отхвърли реактивна тромбоцитоза.

Табл. 2 Причини за вторична тромбоцитоза

Възпаление на тъкани: Колаген-съдова болест, възпаления на дебелото черво
Неоплазии

Инфекции
Миелопролиферативни заболявания

МДС: 5q синдром, РАРС-т

Постспленектомичен синдром, хипоспленизам

Хеморагии

Желязо недоимъчна анемия

Хирургични интервенции

Хемолиза

Възстановителна тромбоцитоза: след корекция на вит.В12 или фолиев дефицит, след алкохолна злоупотреба

Фамилна тромбоцитоза: Свръхпродукция на тромбопоетин

Морфологични промени в периферната кръв

Анизо-тромбоцитоза, гигантски тромбоцити, причудлива форма на тромбоцитите, липса на гранули.

Морфологични промени в костния мозък

Нормоцелуларен до лекостепенен хиперцелуларитет. Изразена мегакариоцитна хиперплазия с наличие на гигантски мегакариоцити, притежаващи зряла цитоплазма и хиперлобулирани ядра. Ретикулиновите фибри са нормални или минимално завишени.

Табл.3 Критерии на СЗО за рост ЕТ миелофиброза

Основни критерии, които са необходими за приемане на диагнозата: 1. Документирана предшестваща ЕТ 2. Костно-мозъчна фиброза степен 2 - 3 (по скала 0 – 3) или степен 3 – 4 (по скала 0 – 4) Допълнителни критерии (изискват се 2): 1. Анемия или спадане на хемоглобина (Хб) с ≥ 20 г/л, сравнен с базисното ниво 2. Левко-еритробластна периферна кръвна картина 3. Нарастване на спленомегалията, дефинирано или като нарастване на палпируемата слезка на >5 см. под ребрената дъга или поява на новопалпируема слезка 4. Нарастване на ЛДХ над горна референтна граница 5. Поява на 1 от 3-те конституционални симптома: >10% загуба на тегло за последните 6 месеца, нощни изпотвявания, необяснима температура ($>37,5^{\circ}\text{C}$)

Стратификация на риска (предимно за тромботични усложнения)

Нисък риск:

- Възраст < 60 г.
- Липса на анамнеза за тромбози
- Тромбоцитен брой $<1500 \times 10^9/\text{l}$
- Липса на сърдечно-съдови рискови фактори (пушачи, затлъстяване, хипертония)

Интермедиерен риск: между нисък и висок

Висок риск:

- Възраст ≥ 60 г.
- Тромбоцитен брой >1500
- Наличие на кардио-васкуларен риск (съпътстващи заболявания)
- Минала анамнеза за тромбози
- Антифосфолипиден синдром
- Вроден хиперкоагулационен статус (мутация на фV, мутация на протромбин 20210, лупусен антикоагулант, антифосфолипидни антитела, протеин С и протеин S дефицит)

Допълнителни рискови фактори за по-кратка преживяемост са изразената левкоцитоза при поставяне на диагнозата и наличието на анемия.

ЛЕЧЕНИЕ

Главна цел - тромбоцитен брой в референтни граници.

Лечението на ЕТ включва следните мероприятия и медикаменти:

1. Подобрение на режима на живот и контрол на съпътстващото лечение:

- спиране на тютюнопушенето
- избягване на НСПВС
- избягване на хормонално лечение

2. Специфично лечение – намаляване на броя и потискане активността на тромбоцитите:

- Хидроксурея (категория 1А)
- Резистентност към лечение с hydroxyurea се приема в следните случаи:
 - 1) тромбоцити $>600 \times 10^9/\text{l}$ след 3-месечно лечение при доза 2 г дневно;
 - 2) тромбоцитен брой $>400 \times 10^9/\text{l}$, съчетан с левкоцити $<2,5 \times 10^9/\text{l}$ или хемоглобин <100 g/l при всякаква доза.
- Анагредид – при резистентност към хидроксурея
- Интерферон-алфа или пегилиран интерферон-алфа – средство на избор при млади пациенти
- Аспирин или Клопидогрел – профилактика на тромбози

3. Тромбоцитна афереза при животозастрашаващи случаи

На табл. 3 е посочен възможният терапевтичен подход при ЕТ, свързан с рисковата група на пациента.

Табл. 3 Риск зависима терапия при ЕТ:

Категория риск	Циторедуктивна терапия* (Hydroxyurea, Anagrelid)	Аспирин**	Interferon α***
Нисък	Не	По избор	Не
Интермедиерен + кардио-васкуларен риск	Не	Да	Млади пациенти
Интермедиерен + значима тромбоцитоза	Да	Не	Млади пациенти
Висок	Да	Да	Не
Жени в детородна възраст	Не	По избор	Да (при интермедиерен и висок риск)

**Ниски дози аспирин: 75 – 150 mg/дн. *Анагрелид: начална доза 0,5 mg 3 - 4 пъти дневно, разгърната доза 2 – 2,5 mg/дн. *Хидроксурея: доза 0,5 – 1,5 g/дн

*** Interferon-α: 3 – 5 x10⁶/дн. 3 -5 пъти седмично

Табл.4 ELN 2013 Критерии за отговор към лечението при пациенти с ЕТ

Пълна ремисия:

- A** Дълготрайно* повлияване на симптомите на ЕТ включително хепато-спленомегалията, подобрение на най-често срещаните симптоми** плюс
- B** Дълготрайна* ремисия в периферната кръв, дефинирана като: тромбоцитен брой $\leq 400 \times 10^9/L$, левкоцити $< 10 \times 10^9/L$, липса на левкоеритробластоза, плюс
- C** Липса на белези за прогресия на заболяването, липса на хеморагии или тромбози, плюс
- D** Костномозъчна хистологична ремисия, дефинирана като: изчезване на мегакариоцитната хиперплазия и липса на >степен 1 ретикулинова фиброза

Частична ремисия

- A** Дълготрайно* повлияване на симптомите на ЕТ включително хепато-спленомегалията, подобрение на най-често срещаните симптоми**,плюс
- B** Дълготрайна* ремисия в периферната кръв, дефинирана като: тромбоцитен брой $\leq 400 \times 10^9/L$, левкоцити $< 10 \times 10^9/L$, липса на левкоеритробластоза, плюс
- C** Липса на белези за прогресия на заболяването, липса на хеморагии или тромбози, плюс
- D** Липса на хистологична костномозъчна ремисия, персистиране на мегакариоцитната хиперплазия

Липса на отговор

Всички случаи, при които не е постигната поне частична ремисия

Прогресия на заболяването

Трансформация в ПВ, post-ЕТ миелофиброза, МДС или Остра левкемия

За приемане на пълен или частичен отговор към лечението не е необходимо да е налице молекуларен отговор.

Изследването за молекуларен отговор става от периферно-кръвни гранулоцити. Пълен молекуларен отговор се дефинира при пълно изчезване на предшестващата аномалия. Парциален молекуларен отговор се дефинира при редукция $\geq 50\%$ на мутационния товар спрямо базистния.

*Продължаващ най-малко 12 седмици

**Подобрение на най-често срещаните симптоми: фебрилитет, сърбеж по кожата, редукция на телло, нощни изпотявания, умора, коремен дискомфорт, ранно насищане при хранене, костни болки, главоболие, безсъние, нарушена сексуалност (≥ 10 -точки намаляване) - MPN-SAF TSS.10 скоринг система.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Swerdlow SH, Campo E, Lee Harris N, et al (eds). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (4-th edition), IARC, 2008, 48-50
2. Zhan H, Spivak JL. The diagnosis and management of Polycythemia vera, Essential Thrombocythemia and Primary Myelofibrosis in the JAK2 V517F Era. Clin Adv in Hematol&Oncol. 2009;7(5):334-342
3. Harrison CN, Green AR. Essential thrombocythemia. Hematol Oncol Clin North Am. 2003;17:1175-1190
4. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, et al. MPL mutation in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. Blood 2008;112:141-149
5. Thiele J, Kvasnicka HM, Orazi A. Bone marrow histopathology in myeloproliferative disorders – current diagnostic approach. Semin Hematol. 2005;42:184-195
6. Alessandra Carobbio, Guido Finazzi, Vittoria Guerini, Orietta Spinelli, Federica Delaini, Roberto Marchioli, Giovanna Borrelli, Alessandro Rambaldi, and Tiziano Barbui. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. Blood 2007, Vol. 109, No. 6, pp. 2310-2313.
7. Passamonti F, Thiele J, Girodon F, et al.: A prognostic model to predict survival in 867 World Health Organization-defined essential thrombocythemia at diagnosis: a study by the International Working Group on Myelofibrosis Research and Treatment. Blood 2012, 120 (6): 1197-1201
8. Barbui T, Thiele J, Carobbio A, et al.: Disease characteristics and clinical outcome in young adults with essential thrombocythemia versus early/prefibrotic primary myelofibrosis. Blood 2012, 120 (3): 569-571
9. Finazzi G, Carobbio A, Thiele J, et al.: Incidence and risk factors for bleeding in 1104 patients with essential thrombocythemia or prefibrotic myelofibrosis diagnosed according to the 2008 WHO criteria. Leukemia 2012, 26 (4): 716-9,
10. Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, et al. Thrombocytosis and leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia. Blood. 2008;112:3135–3137.
11. Gangat N; Wolanskyj AP; McClure RF; Li CY; Schwager S; Wu W; Tefferi A Risk stratification for survival and leukemic transformation in essential thrombocythemia: a single institutional study of 605 patients. Leukemia. 2007 Feb; 21(2):270-276
12. Barbui T, Barosi G, Grossi A, et al. Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia. Haematologica. 2004;89:215-232.
13. Beer PA, Green AR. Pathogenesis and management of essential thrombocythemia. Hematology 2009;621-628
14. Barosi G, Besses C, Birgegard G, et al.: A unified definition of clinical resistance/intolerance to hydroxyurea in essential thrombocythemia: results of a consensus process by an international working group. Leukemia 2007, 21 (2): 277-280
15. Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Manshour T, et al.: Pegylated interferon alfa-2a yields high rates of hematologic and molecular response in patients with advanced essential thrombocythemia and polycythemia vera. J Clin Oncol 2009, 27 (32): 5418-5424
16. Tefferi A, Wassie EA, Guglielmelli P, et al. Type 1 vs Type 2 calreticulin mutations in essential thrombocythemia: a collaborative study of 1027 patients. Am J Hematol. 2014 Apr 19. doi: 10.1002/ajh.23743.
17. Tefferi A, Rumi E, Finazzi G, Gisslinger H et al. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study. Leukemia 2013; 27(9):1874-81
18. Barosi G, Mesa R, Finazzi G, et al. Revised response criteria for polycythemia vera and essential thrombocythemia: an ELN and IWG-MRT consensus project. Blood 2013;121(23):4778-4781.

БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ

ПЪРВИЧНА МИЕЛОФИБРОЗА (ПМФ)

Л. Герчева¹, Вл. Геров¹, И. Мичева¹, М. Генова², Г. Балаценко², В. Сточева², П. Георгиев³, В. Гркланов³, Г. Цветкова⁴, Н. Петкова⁵, Д. Тодориева⁶, М. Стефанова⁷

¹Клиника по хематология при УМБАЛ „Св. Марина“, Варна, ²Клиника по хематология, лаборатории по хистология и молекулярна биология при СБАЛХЗ, София, ³Клиника по хематология при УМБАЛ „Св. Георги“, Пловдив, ⁴Клиника по хематология при УМБАЛ „Александроска“, София, ⁵Клиника по хематология при ВМА, София, ⁶Клиника по хематология при УМБАЛ „Г. Странски“, Плевен,

⁷Отделение по хематология при УМБАЛ, Стара Загора

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Клонална миелопролиферативна неоплазия, характеризираща се в ранните фази с повишен брой на CD34+ клетки в костния мозък и пролиферация предимно на мегакариоцити и гранулоцити. При разгърнатата картина на заболяването в костния мозък се развива реактивна фиброза, а в слезката и черния дроб – екстрамедуларна хемопоеза.

Стадии

1. Префибротичен: хиперцелуларен костен мозък с повишен брой на CD34+ клетки и липсваща или минимална ретикулинова фиброза; левкоцитоза с олевяване в периферната кръв.
2. Фибротичен: значима ретикулинова или колагенова фиброза в костния мозък и често остеосклероза; левко-еритробластна периферна кръвна картина, анизо-пойкилоцитоза (сълзовидна форма) на еритроцитите; сплено- и хепатомегалия.
3. На обостряне: поява на 10 – 19% бласти в ПКК; нарастване на CD34+ клетки в

периферната кръв и костния мозък, където образуват клъстери.

4. Бластна трансформация: $\geq 20\%$ бласти в ПКК (в 5 – 30% от случаите).

Воколо 50% от пациентите във фибротичната фаза се установява JAK2V617F, честотата ѝ в префибротичната фаза не е уточнена.

ЕПИДЕМИОЛОГИЯ

Честота 0,5 – 1,5/100 000 население годишно. Пик на заболяемост 60 – 70 г. Двата пола се засягат еднакво. Средна преживяемост 3,5 – 5,5 г.; при пациентите с добър прогностичен риск и възраст <50 г. – по-продължителна (до 11,5 г.).

ДИАГНОЗА

Анамнеза

Умора, задух, консумативен синдром, костни болки, ранно насищане при хранене, тежест/болка в подребрията, фебрилитет, нощни изпотявания, анемия.

Клиничен преглед

Бледост, спленомегалия, хепатомегалия.

Задължителни изследвания за поставяне на диагнозата (ниво на достоверност IIB):

- Периферна кръв с ДКК, морфология на периферна кръв (сълзовидни еритроцити, левко-еритробластоза)
- Трепанобиопсия с оцветяване за ретикулинови влакна и имунохистохимия (CD34, CD61)
- Биопсия на суспектно екстрamedуларно огнище по преценка
- Цитогенетични изследвания
- Молекулярно-генетично изследване на периферна кръв за BCR-ABL1, JAK2, при липса на JAK2 мутации и при възможност изследване на MPL мутации
- Ниво на лактатдехидрогеназа (ЛДХ)
- Биохимичен анализ: показатели на чернодробната и бъбречна функция, пикочна киселина, урея
- Образни изследвания: ултразвуково

изследване на коремни органи с прицел върху големината на слезката и черния дроб, КТ или ЯМР (при необходимост)

Морфология на костния мозък

1. Префибротична фаза – Хиперцелуларен костен мозък, с увеличен брой на неутрофилите и на атипични мегакариоцити. Еритропоезата е редуцирана в малка степен. Мегакариоцитите формират клъстери с различна големина, които са в съседство с васкуларните синуси и костните трабекули. Мегакариоцитите са с изразен атипизъм (най-атипични от всички МПН)
2. Фибротична фаза – Фиброза (2–3 степен) (табл.1), нормо- или хипоцелуларен костен мозък; атипични мегакариоцити, групирани в клъстери; дилатирани васкуларни синуси. Востеосклеротичната фаза – формиране на костни трабекули, които могат да обхванат над 50% от костно мозъчното пространство.

Табл. 1 Степени на костно-мозъчна фиброза (СЗО)

Степен	Описание на промените
0	Разпокъсан линейарен ретикулин, характерен за нормалния костен мозък
1	Рехава ретикулиновата мрежа с натрупване в периваскуларните зони
2	Дифузен и плътен ретикулин с интензивно натрупване, на места с колагегови и остеосклеротични натрупвания
3	Дифузен и плътен ретикулин с грубо натрупване на колаген и остеосклероза

Генетика и молекулярна генетика

В над 50% от болните се установява мутация JAK2V617F, в 25% - мутация JAK2 exon 12, в 13% - мутации в MPL (MPLW515K или MPLW515L), CALR мутация – в 88%, в 21% - ASXL1, в 15% - TET2, в 8% - CBL и в 5% - EZH2 (доказано лоша прогноза). Цитогенетични аномалии се установяват в 30% от пациентите: най-честа

е del(20q), по-рядко се среща del(13)(q12-22), der(6), t(1;6)(q21-23)+1, +9, +8, -7, del(7q), del(5q), i17q, inv(3), -5/5q, 12p-, 11q23 rear.

Диагнозата се поставя след систематизиране на установените патологични отклонения (табл.2). Причините за вторична миелофиброза са посочени на табл.3.

Табл. 2 Диагностични критерии за ПМФ

Големи критерии 1. Наличие на мегакариоцитна пролиферация и атипизъм, обикновено съчетана с ретикулинова и/или колагенова фиброза (в префибротичната фаза промените в мегакариоцитите се съчетават с повишен костно-мозъчен целуларитет – гранулоцитна хиперплазия и потисната еритропоеза) 2. Не покрива критериите за ПВ, ХМЛ, МДС или други миелоидни неоплазии 3. Наличие на JAK2 V617F или друг клонален маркер (MPL W515K/L и клонални хромозомни аберации), или при липса на клонален маркер да <u>не се касае</u> за вторична фиброза, съпътстваща друго заболяване. Малки критерии 1. Левко-еритробластоза 2. Повишено серумно ниво на ЛДХ 3. Анемия 4. Спленомегалия

Диагнозата е ПМФ ако са налице всички 3 големи критерия плюс 2 малки критерия.

Табл.3 Причини за вторична миелофиброза

Злокачествени заболявания	Доброкачествени заболявания
• Остри левкемии (лимфобластна, миелобластна, мегакариобластна) • Хронична миелоидна левкемия • Косматоклетъчна левкемия • Болест на Hodgkin • Лимфоми • Множествен миелом • Миелодисплазия • Метастатичен карцином • Полицитемия вера • Системна мастоцитоза	• HIV инфекция • Хиперпаратиреоидизъм • Бъбречна остеодистрофия • Системен лупус еритематодес • Туберкулоза • Дефицит на вит. D • Синдром на „сивите“ тромбоцити • Експозиция на торий

Прогностични фактори:

IPSS прогностична система:

Позволява определяне на риска при поставяне на диагнозата. Неблагоприятни прогностични фактори, свързани с кратка преживяемост (по 1 точка за всеки):

- Хемоглобин < 100g/l
- Циркулиращи бласти ≥ 1%
- Наличие на конституционални симптоми
- Възраст > 65 г.
- Левкоцити > 25 .10⁹/l

Стратификация на риска (табл.4)

Табл. 4 IPSS - Рискови групи

Брой прогностични фактори	Рискова група	Средна преживяемост (години)
0	Нисък риск	11.3
1	Междинен-1	7.9
2	Междинен-2	4.0
≥3	Висок	2.3

DIPSS-Plus система:

Позволява определяне на риска по всяко време. Неблагоприятни прогностични фактори, свързани с кратка преживяемост (по 1 точка за всеки):

- Хемоглобин < 100g/l
- Циркулиращи бласти ≥ 1%

- Наличие на конституционални симптоми
- Възраст > 65 г.
- Левкоцити > 25 .10⁹/l
- Тромбоцити < 100x10⁹/l
- Неблагоприятен кариотип +8, -7, del(7q), del(5q), i17q, inv(3), -5/5q, 12p-, 11q23 rear., комплексен кариотип
- Необходимост от трансфузии

Табл. 5 DIPSS-Plus (динамична IPSS) - Рискови групи

Брой прогностични фактори	Рискова група	Средна преживяемост (години)
0	Нисък риск	15.4
1	Междинен-1	6.5
2-3	Междинен-2	2.9
≥4	Висок	1.3

ЛЕЧЕНИЕ

Стратегията за лечение на ново-диагностициран пациент с ПМФ, както и промените, предприети в хода на заболяването се базират на определяне прогнозата според DIPSS-Plus системата тъй като тя е валидна за всяко време от развитие на заболяването.

Ревизираните критерии за отговор са посочени на табл.6

Лечение на ПМФ в хронична фаза:

Пациенти с 5q делеция подлежат на лечение с Леналидомид (при възможност).

1. Пациенти с нисък риск

Не се нуждаят от специфична терапия и се наблюдават, евентуално се включва Allopurinol при хиперурикемия.

2. Пациенти с междинен и с висок риск

2.1 Стволово клетъчна трансплантация (СКТ) при пациенти под 55 години

- Високо-рискови пациенти под 45 години: Миелоаблативна алогенна СКТ (категория 2C)
- Високо-рискови пациенти над 45 години: Немеилоаблативна алогенна СКТ (категория 2C)
- Трансплантацията трябва да се извърши преди пациентът да е получил повече от 20 Е еритроцитен концентрат (категория 2C)

2.2 Ruxolitinib или други JAK-инхибитори (при възможност или в рамките на клинично изпитване)

Ruxolitinib (категория 1A) - JAK1 и JAK2 инхибитор, прилага се при JAK2-положителни и JAK2-отрицателни пациенти.

Дозирание:

- Начална доза (тромбоцити >200 x10⁹/L): 20 mg PO на 12 ч.
- Начална доза (тромбоцити 100-200

$\times 10^9/L$): 15 mg PO на 12 ч.

- Начална доза (тромбоцити 50 до $<100 \times 10^9/L$): 5 mg PO на 12 ч.
- Дозата се титрира според отговора; да не надвишава 25 mg PO на 12 ч.

Прекъсване на лечението: При тромбоцити $<50 \times 10^9/L$

Рестартиращи дози след прекъсване на лечението:

- Тромбоцити $> 125 \times 10^9/L$: 20 mg PO на 12 ч.
- Тромбоцити 100 до $<125 \times 10^9/L$: 15 mg PO на 12 ч.
- Тромбоцити 75 до $<100 \times 10^9/L$: 10 mg PO на 12 ч. за най-малко 2 седмици; при стабилни резултати – увеличаване до 15 mg на 12 ч.
- Тромбоцити 50 до $<75 \times 10^9/L$: 5 mg PO на 12 ч. за най-малко 2 седмици; при стабилни резултати – увеличаване до 10 mg на 12 ч.

Редуциране на дозата поради тромбоцитопения, възникнала в хода на лечението:

- Тромбоцити 100 до $<125 \times 10^9/L$: ако получава 25 mg на 12 ч., редукция до 20 mg на 12 ч.; ако получава 20 mg на 12 ч., редукция до 15 mg на 12 ч.; да не се редуцира при лечение с по-ниска доза
- Тромбоцити 75 до $<100 \times 10^9/L$: 10 mg PO на 12 ч.; да не се редуцира ако дозата е 5 mg на 12 ч.
- Тромбоцити 50 до $<75 \times 10^9/L$: 5 mg PO на 12 ч.

Модификация на дозата според отговора към терапията:

- При липса на ефикасност и добри нива на тромбоцити и неутрофили дозата може да се увеличи с 5 mg на 12 ч. но да не надвишава 25 mg на 12 ч.
- Да не се завишава дозата през първите 4 седмици от лечението и не по-често на всеки 2 седмици
- Преустановяване на лечението след 6 месеца ако липсва редуциране размерите на слезката и повлияване на симптомите

2.3 Симптоматично лечение

Лечение на анемията:

- Поддържащи хемотрансфузии и при необходимост - хелаторна терапия с *desferrioxamine*, *deferiprone* или *deferasirox* (обичайно при кумулативна доза над 25 ед. еритроцитна маса)
- Андрогени: **Danazole** – стартова доза 200 mg/дн, ескалация до 600 - 800 mg/дн (категория 2B); лечението продължава минимум 6 месеца; отговорилите пациенти се лекуват още 6 м. с доза 400 mg/дн, след което дозата постепенно се редуцира до минимално действащо ниво; може да се съчетае с кортикостероиди през първия месец (40 – 60 mg/дн) (категория 2B); мъжете да бъдат скринирани за рак на простатата преди и по време на лечението
- Рекомбинантен Erythropoietin 40 000 E/седмична доза или darbepoietin 150 μg седмично при ендогенно еритропоетиново ниво под 150 E/l; дозата се удвоява при липса на отговор след 2-месечно лечение (категория 2B); лечението се преустановява при липса на отговор след 3-4 месеца (категория 2B)

Циторедукция (при левкоцитоза, изразена спленомегалия, тромбоцитоза и конституционални симптоми) (категория 2B):

- Interferon-alpha – при ранни стадии на ПМФ - 3×10^6 /дн UI ежедневно или през ден (лош толеранс), за предпочитане е пегилиран интерферон, приложен еднократно седмично (категория 2B)
- Hydroxiurea (Hydrea) 1000 – 1500 mg/дневно – средство на избор
- Anagrelide (при възможност) при резистентна на друго лечение тромбоцитоза, с внимание!
- Кортикостероиди – при конституционални симптоми

Симптоматична спленомегалия и екстрамедуларна хемопоеза:

- Hydroxiurea (Hydrea) 1000 – 1500 mg/дневно (ефектът настъпва 8-10 седмици след започване на лечението)
- Thalidomide + Prednisolon/ Lenalidomide+Prednisolon (при възможност)
- Спленектомия: само оперативна!!!; показана при рефрактерна хемолiza, масивна, симптоматична спленомегалия, далачни инфаркти, тежка портарна хипертензия, тежък хиперкатаболен синдром, ексцесивна необходимост от хемотрансфузии, рефрактерна тромбоцитопения, липса на отговор към медикаментозното лечение; ефективна в 25% от пациентите; смъртност в 10% (категория 2C)
- Облъчване на слезката: при тромбоцити

>50 x10⁹/L, ниски дози интермитираща радиация – ниски дози - 100 cGy на всеки 1-3 месеца

Лечение на хиперурикемията

- Allopurinol

Екстрамедуларни хемопоетични инфилтрати

- Радиотерапия: ниски дози – 50-100 cGy на всеки 1-3 месеца

Лечение на ПМФ в бластна трансформация

- Поддържащо лечение
- При млади пациенти полихимиотерапия за ОМЛ
- Azacitidine (при възможност) – 75 мг/м² за 7 дни на всеки 28 дни (категория 2C)

Табл.6 Ревизирани критерии за отговор към лечение при ПМФ (IWG-MRT&ELN)(20)

Критерий за отговор	Отговор с продължителност >12 седмици
Пълен отговор	<u>Костен мозък</u> : Нормоцелуларен; бласти <5%; миелофиброза ≤степен 1 (Европейска класификация)
	<u>Периферна кръв</u> : Хемоглобин ≥100 г/л и <ГРГ; неутрофили ≥1 x 10 ⁹ /л и <ГРГ; тромбоцити ≥100 x 10 ⁹ /л и <ГРГ; <2% незрели миелоидни клетки (при спленектомирани <5%)
	<u>Клинично</u> : без симптоми, без сплено- и хепатомегалия, без екстрамедуларна хемопоеза
Частичен отговор	<u>Периферна кръв</u> : Хемоглобин ≥100 г/л и <ГРГ; неутрофили ≥1 x 10 ⁹ /л и <ГРГ; тромбоцити ≥100 x 10 ⁹ /л и <ГРГ; <2% незрели миелоидни клетки
	<u>Клинично</u> : Изчезване на клиничните симптоми, липса на сплено- и хепатомегалия, без екстрамедуларна хемопоеза или
	<u>Клинично</u> : Изчезване на клиничните симптоми, липса на сплено- и хепатомегалия, без екстрамедуларна хемопоеза <u>Костен мозък</u> : Нормоцелуларен; бласти <5%; миелофиброза ≤степен 1 (Европейска класификация)
Клинично подобрене	<u>Периферна кръв</u> : Хемоглобин ≥85 <100 г/л; неутрофили ≥1 x 10 ⁹ /л и <ГРГ; тромбоцити ≥50<100x 10 ⁹ /л; <2% незрели миелоидни клетки
	Няма данни за прогресия; подобрене на анемията; няма влошаване на тромбоцитопенията или неутропенията
	Трансфузионно независими пациенти: нарастване на хемоглобина с ≥20 г/л
Анемия	Трансфузионно зависими пациенти: стават трансфузионно независими

Слезка	При начална спленомегалия 5-10 см. под ребрената дъга слезката става непалпируема Пре базистна спленомегалия >10 см. под ребрената дъга намаляване на слезката с $\geq 50\%$ При базистна спленомегалия <5 см. под ребрената дъга отговор на слезката не се оценява^a
Симптоми	Умора, концентрация, ранно насищане при хранене, слабост, нощни изпотявания, сърбеж, костни болки, коремен дискомфорт, загуба на тегло, температура (10 фактора); $\geq 50\%$ редукция
Прогресия на заболяването	Поява на спленомегалия >5 см. под ребрената дъга или При начална спленомегалия 5-10 см. под ребрената дъга нарастване с $\geq 100\%$ или Пре базистна спленомегалия >10 см. под ребрената дъга нарастване с $\geq 50\%$ или Левкемична трансформация, доказана при бласти в костния мозък $\geq 20\%$ или Периферна кръв с бласти $\geq 20\%$ в съчетание с абсолютен брой на бластите $> 1 \times 10^9/\text{л}$ за най-малко 2 седмици
Стабилно заболяване	Без данни за отговор или прогресия
Рецидив	Загуба на критериите за клинично подобрение Загуба на отговора към анемията за най-малко 1 месец Загуба на отговора на слезката за най-малко 1 месец^b
Цитогенетична ремисия	Необходими са поне 2 цитогенетични изследвания през 6 месеца, включващи най-малко 10 метафази Пълна ремисия: негативизиране на аномалиите Частична ремисия: $\geq 50\%$ редукция на аномалните метафази^c
Молекулярна ремисия	Необходими са поне 2 изследвания от периферни неутрофили през 6 месеца Пълна ремисия: негативизиране на аномалиите Частична ремисия: $\geq 50\%$ редукция на мутационния товар^d
Цитогенетичен/молекуларен рецидив	Повторна поява на цитогенетични или молекулярни абнормности, доказани чрез повтарящи се тестове

ГРГ – горна референтна граница

^a Отговорът на слезката се оценява чрез ЯМР или КТ

^b Необходими са нови цитогенетични и молекулярно-биологични изследвания

^c Парциален отговор може да се изчисли при наличие най-малко на 10 абнормни метафази при диагностицирането

^d Парциален отговор може да се изчисли при наличие най-малко на 20% мутантни алели при диагностицирането

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Swerdlow SH, Campo E, Lee Harris N, et al (eds). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues* (4-th edition), IARC, 2008, 44-47
2. Reilly JT, McMillin MF, Beer FA et al. Guideline for the diagnosis and management of myelofibrosis. *British J of Haematology* 2012 158, 453-471
3. Schnittger S, Bacher U, Eder C et al. Molecular analyses of 15,542 patients with suspected BCR-ABL1-negative myeloproliferative disorders allow to develop a stepwise diagnostic workflow *Haematologica* 2012; 97(10):1582-1585
4. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med*. 2013 Dec 19;369(25):2391-405
5. Lundberg P, Karow A, Nienhold R, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2014 Jan 29. [Epub ahead of print] PMID: 24478400 [PubMed - as supplied by publisher]
6. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms *N Engl J Med*. 2013 Dec 19;369(25):2379-90.
7. Zhan H, Spivak JL. The diagnosis and management of Polycythemia vera, Essential Thrombocythemia and Primary Myelofibrosis in the JAK2 V517F Era. *Clin Adv in Hematol&Oncol*. 2009;7(5):334-342
8. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, et al. A new prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood*. 2009;113(13):2895-901.
9. Gangat N, Caramazza D, Vaydia R et al. DIPSS Plus: A refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count and transfusion status. *Journal of Clinical Oncology* 2011; 29:392-397
10. Tefferi A, Mesa RA, Schroeder G, et al. Cytogenetic findings and their clinical relevance in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br. J Haematol*. 2001;113:763-771
11. Tefferi A, Thiele J, Vardiman JW: The 2008 World Health Organization classification system for myeloproliferative neoplasms: order out of chaos. *Cancer* 2009, 115 (17): 3842-7
12. Passamonti F, Vanelli L, Malabarba L, et al. Clinical utility of the absolute number of circulating CD34-positive cells in patients with chronic myeloproliferative disorders. *Haematologica* 2003; 88:1123-1129
13. Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi A. M., et al. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood* 2010; 115: 1703-1708.
14. Mesa Ruben A; Verstovsek Srdan; Cervantes Francisco; et al. Primary myelofibrosis (PMF), post polycythemia vera myelofibrosis (post-PV MF), post essential thrombocythemia myelofibrosis (post-ET MF), blast phase PMF (PMF-BP): Consensus on terminology by the international working group for myelofibrosis research and treatment (IWG-MRT). *Leukemia research* 2007;31(6):737-740.
15. Omar I Abdel-Wahab, Ross L Levine. Primary myelofibrosis: update on definition, pathogenesis, and treatment. *Annual review of medicine*. 2009;60: 233-45
16. Zhan H, Spivak JL. The diagnosis and management of Polycythemia vera, Essential Thrombocythemia and Primary Myelofibrosis in the JAK2 V517F Era. *Clin Adv in Hematol&Oncol*. 2009;7(5):334-342
17. Federico M, Pagnucco G, Russo A, et al. Palliative splenic irradiation in primary and post PV/ET myelofibrosis: outcomes and toxicity of three radiation schedules. *Hematology Reviews* 2009; 1:e7, pp 33 – 39
18. Abellsson J, Merup M, Birgegård G, et al.: The outcome of allo-HSCT for 92 patients with myelofibrosis in the Nordic countries. *Bone Marrow Transplant* 2012, 47 (3): 380-386
19. Harrison, C., Kiladjian, J. J., Al-Ali, H. K., Gisslinger, H., Waltzman, R., Stalbovskaya, V., McQuitty, M., Hunter, D. S., Levy, R., Knoops, L., et al. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *N Engl J Med* 2012, 366, 787-798
20. Tefferi A, Cervantes F, Mesa R. Revised response criteria for myelofibrosis: International Working Group-Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment (IWG-MRT) and European LeukemiaNet (ELN) consensus report. *Blood* 2013, 122: 1395-1398
21. Passamonti F, Maffioli M, Cervantes F, et al. Impact of ruxolitinib on the natural history of primary myelofibrosis: a comparison of the DIPSS and the COMFORT-2 cohorts. *Blood*, 2014, 123 (12): 1833-1835

БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ

Методично ръководство за диагностика, лечение и проследяване на заболяванията на кръвта и кръвотворните органи

РАБОТНА ГРУПА ЗА ЗАБОЛЯВАНИЯ НА ПЛАЗМОЦИТНАТА РЕДИЦА

ЛИМФОПЛАЗМОЦИТОИДЕН ЛИМФОМ/ МАКРОГЛОБУЛИНЕМИЯ НА WALDENSTRÖM

**В. Горанова–Маринова¹, Н. Цветков², Е. Хаджиев³, Г. Арnaudов⁴, В. Геров⁵, А. Недева⁶,
В. Врачев⁷, С. Горанов¹**

¹Клиника по клинична хематология УМБАЛ «Св Георги» - Пловдив; ²Клиника по клинична хематология УМБАЛ, «Н.Странски»- Плевен; ³Клиника по клинична хематология УМБАЛ «Александровска» - София; ⁴Отделение за СКТ, СБАЛХЗ – София; ⁵Клиника по клинична хематология, УМБАЛ «Св Марина»- Варна; ⁶Клиника по клинична хематология, ВМА – София; ⁷Отделение по Клинична хематология УМБАЛ Стара Загора

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Лимфоплазмоцитният лимфом (LPL) е малигнена неоплазия, резултат от пролиферация на клонални лимфоцити и лимфоплазмоцити, ангажиращи костния мозък, лимфните възли и слезката със запазена възможност за плазмоцитна диференция и секреция на структурно хомогенни имуноглобулини. Макроглобулинемията на WALDENSTRÖM е LPL със секреция на моноклонал IgM.

ЗАБОЛЕВАЕМОСТ И ЧЕСТОТА

1/100 000 население и около 8% от НХЛ

ДИАГНОЗА:

1. Анамнеза

- “В симптоми”
- Субективни оплаквания за хипервискозен синдром
- Субективни оплаквания за студово-аглутинационен синдром или криоглобулинемия (II тип)

- Субективни оплаквания за полиневропатия

2. Клиничен преглед

- Performance status
- Насочено изследване на периферните лимфни области, вкл. Waldeyer’s пръстен, черен дроб и далак
- Хеморагична диатеза
- Полиневропатия
- Fundus paraproteinemicus (очни промени могат да се наблюдават и при ниски нива на М-парапротеина !)

3. Хематалогични и биохимични базисни изследвания

- ПКК, ДКК
- Биохимичен анализ: показатели на чернодробната и бъбречна функции
- LDH, β_2 - микроглобулин
- HIV, HVC, HVB (възможност за реактивация след химио/имунотерапия)
- Серумен вискозитет

4. Цитоморфологична, имунохистохимична, флоуцитометрична и имунологична диагноза

- Цитоморфология - биопсия на лимфен възел, мекотъканна формация или ангажиран орган
- Изследване на костния мозък (миелограма, трепанобиопсия)
- Имунохистохимия - парафинов панел : CD45(+), CD10(-), CD5(-), CD 23(-), CD19(+) CD20(+), sIgM(+), Cd3, κ/λ **Внимание:** CD5, CD10, CD23- може да са положителни в 10-20% в случаите, но това не изключва диагнозата
- Флоуцитометрия CD19+, CD20+, CD 22+, CD79a +, s/clgM+++ (рядко IgA, IgG) CD5-, CD11c -, CD10-, CD22-, CD 23 -, HLA DR +, CD 38+
- Електрофореза на серум/урина за М-градиент
- Количествено имуноглобулини. **Внимание:** Количеството на моноклоналния имуноглобулин IgM – няма лимитирано ниво за диагнозата, но има прогностично значение !
- Количествено леки вериги и съотношение κ: λ

5. Образни методи

- Рентген на плоски кости
- Рентгенография на белия дроб - фас и профил
- КАТ на гръден кош и корем, малък таз

6. Изследвания и консултации при необходимост

- КАТ за тъканни лезии
- Тест за криоглобулинемия
- Тест за плазмен вискозитет
- Тест на Coombs за студови аглутинини
- Цитогенетика: 6q-; t (9;14)(p13;q32) / PAX5-IgH в 30- 50%
- FISH: PAX5-IgH
- Молекулярно генетичен анализ: PCR за пренареждане на Ig гени; соматични мутации във V областите на Ig гени MYD88 L265P, AS-PCR
- Консултация с невролог (полиневропатия)

- Електромиелография
- Анти - MAG и анти – GM антитела (при полиневропатия)
- Консултация с офталмолог (fundus paraproteinemicus при IgM>30g/l ?)
-

КРИТЕРИИ ЗА ДИАГНОЗА:

WHO критерии за LPL/MW.

Лимфоплазмоцитен лимфом

- Неоплазия от дребни В-лимфоцити, лимфоплазмоцити, плазматични клетки, еозинофили
- Обикновено има ангажиране на костния мозък и понякога увеличени лимфни възли и слезка
- Не покрива критериите за друга В-дребно-клетъчна неоплазия , при която може да се наблюдава плазматична диференциация.

Макроглобулинемия на Waldenström:

- Лимфоплазмоцитен лимфом с костно-мозъчно ангажиране и IgM моноклонална продукция

Waldenström Macroglobulinemia

International Workshop criteriuu:

- IgM моноклонална гамопатия в каквато и да е концентрация
- Костно-мозъчна инфилтрация от дребни лимфоцити, лимфоплазмоцити , плазматични клетки, еозинофили.
- Дифузен, интерстициален или нодуларен тип костно-мозъчна инфилтрация.
- CD19+, CD20+, sIgM+; CD5, CD10, CD23 може да се експресират при някои случаи на Макроглобулинемия на Waldenström, това не изключва диагнозата).

СТАДИЙНА И ПРОГНОСТИЧНА СИСТЕМА

За стадиране и оценка на прогностичния риск се прилага система на базата на 3 основни показатели за активността на LPL:

Система за стадиране и прогностична оценка при лимфоплазмоцитоидния лимфом

Стадий	Риск	Критерии
A	Нисък	b2МГ < 3 mg/l; Hb > 120 g/l
B	Интермедиерен	b2МГ < 3 mg/l Hb < 120 g/l
C	Интермедиерен	b2МГ > 3 mg/l IgM < 40 g/l
D	Висок	b2МГ > 3 mg/l IgM > 40 g/l

Неблагоприятни прогностични фактори:

- възраст над 65 г
- албумин <30 g/L,
- неутрофили <1.5 x 10⁹/L, or
- тромбоцити <150 x 10⁹/L.

Критерии за терапевтичен отговор. В критериите за терапевтичен отговор са включени количествената промяна на М-градиента и лимфоаденомегалията, т.е комбинация от критериите за терапевтичен отговор при нодалните НХЛ и ММ.

Терапевтичен отговор	ПОКАЗАТЕЛИ
CR	Без болестни симптоми, с пълно обратно развитие на лимфоаденомегалията (КАТ), без данни за костномозъчно ангажиране и отсъствие на М градиент (имунофиксация)
PR	Без симптоми на заболяването с редукция над 50% на лимфоаденомегалията и понижаване над 50% на М-градиента
MR	Понижаване с повече от 25% и по-малко от 50% на М-градиента, при отсъствие на нови симптоми на заболяването
SD	Понижаване под 25% на М-градиента без прогресия на лимфоаденомегалията и без засилване на субективните симптоми
PD	Повишаване над 25% от М-градиента с нарастване на лимфоаденомегалията, засилване на В-симптомите и другите изяви на болестта

ЛЕЧЕНИЕ

Общи принципи на поведение

1. **Първа линия** на лечение при LPL са **алкилиращите агенти, пуриновите аналози, протеазомни инхибитори, МКА и комбинацията** между тях
2. При пациентите с цитопения, напреднала възраст или кандидати за автоложна трансплантация лечението с **алкилиращи агенти** трябва да бъде внимателно и непродължително.
3. При продължително лечение с **пуринови аналози** е регистрирана по-

висока честота на миелодисплазии, трансформации, вкл остри миелогенни левкемии

4. При пациенти с хипервискозен синдром, криоглобулинемия или автоимунна анемия и/или тромбоцитопения средство на избор е **плазмаферезата**: след 2-3 сеанса М-парапротеинът се понижава с 40 -60%. При коригирано ниво на парапротеина базисното лечение трябва да започне не по-късно от 4-5 седмици!
5. При LPL с хипервискозитет **Нв и Нт са артефициално по-ниски** поради увеличаване плазмен обем – опасност от белодробен оток ! Кръвопреливането или друга инфузионна терапия се

извършва бавно и строго прецизирано.

6. При лечение **МКА** се наблюдава транзиторно повишение на М-градиента, след първите 1-2 курса, което налага задължителен контрол. Внимание: Лечение с МКА при високо ниво на IgM > 50g/L се прилага само в комбинация с химиотерапия
7. При постигнати CR/PR е възможно поддържащо лечение с МКА
8. При подбрани пациенти се предприема СКТ

Поведение в начален и безсимптомен стадий на болестта

1. При хемоглобин над 100 g/l, тромбоцити над $100 \cdot 10^9/l$, М-градиент под 3,0 g/l, $\beta 2$ -микроглобулин под 3,0 mg/l, незначима лимфаденомегалия и без изразени симптоми на заболяването - не се налага лечение!

2. Лечение се започва при:

- анемия или тенденция за панцитопения
- голяма туморна формация
- симптоми на хипервискозитет
- прогресираща лимфадено- или спленохепатомегалия
- изразени В-симптоми
- криоглобулинемия и студовоаглутинационна болест
- полиневропатия
- органна дисфункция.

БОЛНИ С КЛИНИЧНО ИЗЯВЕНИ

СИМПТОМИ

Индукционно лечение

Препоръчаното терапевтично поведение се базира на самостоятелно или комбинирано приложение на алкилиращи агенти, МКА, пуринови аналози, протеазомни инхибитори, имуномодулатори, плазмафереза, СКТ.

Контролът на терапевтичния отговор се извършва през 3 – 6 месеца чрез показателите за активност на

заболяването.

Прилагат се следните равностойни опции, в които се отчита потенциалната стволовоклетъчна токсичност:

1. Режими без стволовоклетъчна токсичност

- Bortezomib + Rituximab
- Bortezomib + Dexamethazon
- Bortezomib + Dexamethazon + Rituximab
- CHOP + Rituximab
- CP + Rituximab
- Thalidomide + Rituximab

2. Режими с потенциално стволовоклетъчна токсичност или риск от трансформация

- Chlorambucil
- Chlorambucil + Prednisolon
- Bendamustin
- Bendamustin + Prednisolon
- Bendamustin + Rituximab
- Cyclophosphamid + Prednisolon
- CVP, COP
- Cladribin + Rituximab
- Fludarabin + Rituximab
- Fludarabin + Cyclophosphamid
- Fludarabin + Cyclophosphamid + Rituximab

3. Плазмафереза (ако е възможно вкл селективна имуноадсорбция на IgM парапротеина) при симптоми на плазмен хипервискозитет **Внимание!** плазмаферезата се прави преди започването на лечение с МКА.

Резистентност, рецидиви, прогресия или трансформация на болестта

1. При късен рецидив се прилагат същите лекарствени продукти, довели до CR/PR).
2. Режими (salvage therapy) без стволовоклетъчна токсичност
 - Alentuzumab
 - Bortezomib + Rituximab (ако не е прилаган)
 - Bortezomib + Rituximab + Dexamethazon (ако не е прилаган)

- CHOP + Rituximab (ако не е прилаган)
 - Everolimus
 - Ibrutinib
 - Ofatumomab (при нетолериране на Rituximab)
 - Комбинирани химиотерапевтични CHOP-like режими
 - Пациенти, лекувани с алкилиращи агенти могат да преминат на комбинирани схеми с пуринови аналози
 - Пациенти, лекувани с пуринови аналози могат да преминат на комбинирани режими с протеазомни инхибитори и/или имуномодулатори и/или Bendamustin и/или антрациклини + ГКС
 - Високодозови режими, последвани от стволовоклетъчна трансплантация
 - Участие в клинични проучвания
 - (През всеки 2 цикъла лечение се контролира количествено парапротеинната продукция)
10. Treo SP et al A prospective multicenter study of the Bruton's tyrosine kinase inhibitor ibrutinib in patients with relapsed or refractory Waldenstrom's Macroglobulinemia Hematol. Oncol 2013; 31; (suppl 1):119:067

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Cheson BD et al Bendamustin: rebirth of an old drug. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1492-1501
2. Dimopoulos MA, Anagnostopoulos A et al Primary treatment of Waldenstrom's macroglobulinemia with rituximab, dexamethazone and cyclophosphamide. *J Clin Oncol* 2007; 25:3344-3349
3. Dimopoulos MA, Anagnostopoulos A et al . Update on treatment recommendations from the Fourt Int Workshop on Waldenstrom's macroglobulinemia *J Clin Oncol* 2009; 27; 120-126
4. Ghobrial et al. Phase II trial of the oral mammalian target of rapamycininhibitor everolimus in relapsed or refractory Waldenstrom's Macroglobulinemia *J Clin Oncol* 2010; 28: 1408-1414
5. Ghobrial et al Phase II trial of the weekly bortezomib in combination with rituximab in relapsed or refractory Waldenstrom's Macroglobulinemia *J Clin Oncol* 2010; 28: 1422-1428
6. Ioakimidis L et al. Comparative outcomes following CP-R, CVP-R, CHOP – R in Waldenstrom's macroglobulinemia *Clin Lymphoma Myeloma*. 2009; 9: 62-66
7. NCCNPracticeGuidelinesinOncologyv.1.2014;Waldenstrom's macroglobulinemia
8. Treo SP How I treat Waldenstrom's macroglobulinemia *Blood* 2009; 114: 2375-2385
9. Treo SP et al Long –term follow –up of symptomatic patients with lymphoplasmacytic lymphoma/ Waldenstrom's macroglobulinemia treated with the anti CD-52 monoclonal antibody alemtuzumab *Blood* 2011; 118; 4452-4457

БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ

МУЛТИПЛЕН МИЕЛОМ

**В. Горанова–Маринова¹, Н. Цветков², Е. Хаджиев³, Г. Арnaudов⁴, В. Геров⁵, А. Недева⁶,
В. Врачев⁷, С. Горанов¹**

¹Клиника по клинична хематология УМБАЛ «Св Георги» - Пловдив; ²Клиника по клинична хематология УМБАЛ, «Н.Странски»- Плевен; ³Клиника по клинична хематология УМБАЛ «Александровска» - София; ⁴Отделение за СКТ, СБАЛХЗ – София; ⁵Клиника по клинична хематология, УМБАЛ «Св Марина»- Варна; ⁶Клиника по клинична хематология, ВМА – София; ⁷Отделение по Клинична хематология УМБАЛ Стара Загора

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

В-клетъчна неоплазия с мултифокална пролиферация на клонални плазмоцити в костния мозък, секретирани структурно хомогенни имуноглобулини или фрагменти от тях с разнообразна клинична изява и предимно ангажиране на костната система и бъбреците.

Честота и заболеваемост 15-20% от малигнените хемопатии; средна възраст 65г; 75% от болните са над 70г при съотношение М : Ж 1,5:1,0 годишна заболеваемост 4-6/100 000 население, която с напредване на възрастта нараства и при пациенти над 75г достига 30-35/100 000 честотата ;

Клинични варианти:

1. Множествен миелом
 - дифузно-огнищен; дифузен;
 - множествено огнищен
2. Солитарен
3. Екстрamedуларен

4. Склерозиращ миелом
5. POEMS синдром
6. Плазмноклетъчна левкемия
7. По начин на протичане
 - Индолентен; тлеещ smoldering миелом; активен разгърнат миелом
8. Хистологични варианти
 - тип Marshalko; дребноклетъчен; синцитиален; полиморфен; бластен
9. Имунологични варианти - честота
 - IgA -20%, IgG -60%, IgD - 2%, IgE <1%
 - Лековерижен (Bence Jones) миелом -20%
 - Биклонален (три) -6-9%
 - Несекретиращ -1%

ДИАГНОЗА:

Анамнеза + физикален статус

1. Хематалогични и биохимични базисни изследвания

- ПКК, ДКК
- урея, креатинин, пик к-а
- общ белтък, албумин
- LDH, β 2-микроглобулин, CRP
- електролити, серумен Са и съотно-

шение Ca/Ca⁺⁺

- протеинурия –количествено

2. Цитоморфологична, имунохимична и имунохистохимична диагноза

- миелограма , трепанобиопсия
- тъканна или костна биопсия (при солитарните екстрамедуларни форми)
- имунохистохимия: CD138+, CD79a+, CD56+, CD38+, CD45 +, MUM1+, Ig+, X/λ +
- костномозъчна/периферна флоуцитометрия: CD45-, slg+, CD19±, CD 20±, CD138, CD79a/b +, CD38+, CD56+, CD10±
- имуноелектрофореза/имунофиксация на серум/урина за М-градиент
- количествено свободни леки вериги (FLC) и **съотношението κ:λ** (NB! Съотношението е скрининг за ММ и другите плазмоклетъчни заболявания, служи за оценка и мониториране на терапевтичния отговор, има и прогностично значение)
- количествено определяне на моноклонални и нормални имуноглобулини

3. Образни методи

- Рентгенография на плоски кости, вкл гръдна клетка
- КАТ – особено при съмнение за компресия на medulla spinalis
- PET/CT – оценка на к.м инфилтрация, екстрамедуларните мекотъканни локализации в дебюта и при рецидиви, преди високодозна химиотерапия и трансплантационни програми, прогностично значение

4. Цитогенетика и молекулярно – генетичен анализ:

t(11;14) (q13:q32) CCND –IgH (15-20%)
t(4;14) (p16.3;q32) FGFR3-IgH (15%)
t(14;16)(q32.3:q23) MAF-IgH (5-10%)
t(6;14) (p21;q32) CCND3-IgH (4-6%)
t(6;14) (p25;q32) IgH-MUM1/IRF-4
del 13; del 17p13; 1q21 амплификация

5. Допълнителни изследвания при необходимост

- HLA – типизиране
- Костна- или костномозъчна сцинтиграфия
- Минирален костен статус (DEXA-дензитометрия)
- Маркери за остеорезорбция: DPD, RANKL, NTX
- Серумен вискозитет
- Plasma cell labeling index
- Тинктуриални проби за амилоидоза ; електронна микроскопия

КРИТЕРИИ ЗА ДИАГНОЗА.

1.Мултиплен миелом

Големи критерии:

- Плазмоцитна инфилтрация на костния мозък > 10%
- Патологична плазмоцитна инфилтрация от екстрамедуларна тъканна или солитарна формация
- Моноклонален протеин: IgA >20,0 g/l, IgG>35,0 g/l, BJ уропротеини > 1,0 g/24^h (при отсъствие на на AL-амилоидоза)

Малки критерии:

- Моноклонален протеин под цитираните по-горе нива
- Литични костни лезии
- Супресия на поликлоналните IgM<0,05g/l, IgA<0,1g/l, IgG<0,6 g/l
- Серумен Ca > 2,65 mmol/l, creatinin > 2 mg/dl, Hb < 100 g/l

**Диагнозата се приема при 1 голям + 1 малък критерии или при 3 от 3 малки*

***При липса на М-градиент за диагнозата се изисква над 30% плазмоцитна инфилтрация в к.м.*

2. Несекретиращ миелом :

- липса на М – градиент

3.Smoldering myeloma:

- М-компонент IgG > 3g/l, IgA> 1g/l BJ pr > 1 g/l
- Плазмоцитна инфилтрация на к.м. > 10% , но <20%

- Без органични увреждания, без екстрамедуларни огнища, без костни лезии, без хиперкалцемиа, без бъбречна недостатъчност, без анемия, без симптоми.

4. Плазмноклетъчна левкемия (60% първична и 40% вторична):

- циркулиращи плазмоцити $> 2.10^9/L$ или над 20% от ДКК

6. Солитарен миелом

- единична туморна маса от моноклонална плазмоцитна линия
- без костномозъчно ангажиране
- без М –градиент
- без костни промени
- без бъбречни дисфункции
- без други параклинични отклонения

7. Екстрамедуларен миелом

- единични или множествени мекотъканни формации от моноклонална клетъчна линия
- без костномозъчно ангажиране
- без М –градиент
- без костни промени

- без бъбречни дисфункции
- без други параклинични отклонения

8. POEMS синдром

Главни критерии:

- Полиневропатия (демиелинизация, предимно моторна)
- М –градиент в серум и/или урина най-често от IgA и/или BJλ

Малки критерии:

- Склеротични костни лезии, Болест на Кастрелман
- Органомегалия (лимфо-, спленомегалия, хепатомегалия)
- Отоци, изливи, оток на папилата
- Ендокринопатия
- Кожни промени (хипертрихоза, хиперпигментация)
- Допълнителни:
- Тромбоцитоза, полиглобулия, хиперхидратация,
- Пулмонална хипертензия, рестриктивна белодробна болест
- Артралгии, кардиомиопатия, ниско ниво на вит В₁₂

СТАДИРАНЕ НА ММ

Durie&Salmon стадийна система

I клиничен стадий	II клиничен стадий	III клиничен стадий
(туморна маса $< 0,6 \times 10^{12}/m^2$) Наличие на всички от изброените критерии: • Хемоглобин $> 100 g/l$ • Нисък М-градиент: IgG $< 50 g/l$, IgA $< 30 g/l$ • BJ протеинурия $< 4 g/24^h$ • Серумен калций в норма • 0- 1 остеолитични огнища	(туморна маса 0,6- $1,2.10^{12}/m^2$) Междинни критерии между I и II стадии.	(туморна маса $> 1,2.10^{12}/m^2$) Наличие на един или повече от изброените критерии • Хемоглобин $< 85 g/l$ • М-градиент: IgG $> 70 g/l$, IgA $> 50 g/l$ • BJ протеинурия $> 12 /24^h$ • Серумен калций $> 3 mmol/l$ • Множествени остеолити.
Подстадий А - креатинин $< 2mg/dl$ Подстадий В - креатинин $> 2 mg/dl$		

International staging system (ISS)

I Клиничен стадий:	II Клиничен стадий:	III Клиничен стадий:
b2-мг < 3,5 mg/dl ser alb > 3,5 g/dl	b2-мг 3,5 – 5,5 mg/dl	b2-мг > 5,5 mg/dl

Стратификация на риска при пациенти с ММ (специално внимание при възрастните пациенти – най-хетерогенната група!)

Неблагоприятни прогностични фактори:

- Възраст над 70г и лош Performans status
- $\beta 2$ -микроглоб.>5,0 mg/dl, албумин< 3,0 mg/dl, LDH>600 UI, CRP> 15, креатинин > 400 μ mol/l Hb < 80 g/l, PLT < 50.10⁹ /l
- III КС (Durie&Salmon), изразени костни поражения

- Множествена екстрamedуларна (мекотъканна) локализация
- Лековерижни миеломи, плазмобластни варианти
- Цитогенетични аномалии /FISH – t (4;14), t (14;16), t (11;14) del 13, del17p13, 1q21 амплификация
- Висок Plasma cell labeling index
- Пациент-специфични фактори: възраст над 70г, коморбидност вкл сърдечна, дихателна, бъбречна, PS

КРИТЕРИИ ЗА ХХ ТЕРАПЕВТИЧЕН ОТГОВОР

International Myeloma Group Response Criteria*(2a)

Терапевтичен отговор	К р и т е р и и
sCR	- Нормално съотношение κ : λ - Отсъствие на клонални плазмоцити чрез имунохистохимия или имунофлуоресцентна методика
CR	- Не се открива М-градиент в серум и/или урина чрез имунофиксация за период минимум от 6 седмици <5% плазматични клетки в к.м. - Отсъствие на екстрamedуларни мекотъканни огнища
VGPR	- Негативна серумна електрофореза за М-градиент, при 50% понижение серумния М-градиент или понижение $\geq 90\%$ на уринния М-градиент с максимална екскреция ≤ 200 mg/24ч - Ако серумният или уринният М-градиент са неизмерими се отчита нивото на лековерижната продукция/екскреция - Ако серумният и уринният М-градиент, както и лековерижният компонент са неизмерими се изисква >50% понижение на плазматичните клетки при изходна плазмоклетъчна инфилтрация в к.м. повече от 30% - Понижение доказуем парапротеин чрез имунофиксация - Понижение $\geq 90\%$ на серумния М-градиент и/или понижение на уринния парапротеин < 100 mg/24h

PR	• >50% на мекотъканните формации
SD	• Не покрива критериите за CR, VGPR, PR или прогресия
PD	Въпреки лечението се регистрират възобновяване на симптомите • >25% нарастване на серумния парапротеин (>5g/l) • >25% нарастване на уринния парапротеин (>200 mg/24ч) • >10 mg/dl повишение на лековерижната екскреция • >10% повишение плазмоклетъчната инфилтрация • >2,65 mmol/l серумен Ca • Новопоявили се или нарастване на старите екстрамедуларни формации и остеолитични костни огнища
Relaps	➤ Новопоявили се мекотъканни формации или остеолитични огнища ➤ Нарастване с 50% или най-малко с 1 см на стари екстрамедуларни формации ➤ Понижение на Hb ≥ 20 g/l ➤ Повишение на серумния Cr ≥ 20 μmol/l ➤ Повишение на серумния Ca ≥ 2.65 mmol/l ➤ Органни дисфункции

Л Е Ч Е Н И Е

Лечение на солитарен миелом (плазмоцитом)

1. Средство на избор: **RT ≥ 45 Gy (involved field)**
2. При CR → **наблюдение** през 3-6 месеца и контролни изследвания с диагностичния панел за мултиплен миелом, вкл образни методи
3. При резистентност или прогресия след първоначален отговор – диагностични изследвания за мултиплен миелом, стадиране и започване на лечение

Лечение на екстрамедуларен (мекотъканен) миелом)

Средство на избор - **RT ≥ 45 Gy (involved field)**

1. При възможност **радикално хирургическо лечение**, последвано от RT

2. При CR → **наблюдение** през 3-6 месеца, след което веднъж годишно и контролни изследвания с диагностичния панел за мултиплен миелом
3. Задължително **KAT и/или ЯМР** през 6 месеца за първата година и след това при индикации.
4. При резистентност или прогресия след първоначален отговор – пълен обем диагностични изследвания за генерализация на процеса (трансформация в мултиплен миелом), стадиране и започване на лечение

Лечение на smoldering и I A клиничен стадий (D&S) мултиплен миелом

1. При безсимптомна начална фаза не се прилага лечение, а само наблюдение в продължение на месеци и години
2. Хематологичният контрол се извършва през 3-6 месеца **с биохимичния панел за активност на заболяването**.
3. Лечение се започва при поява на еволютивните симптоми и прогресия към II КС: (нарастване на парапротеина

и/или лековерижната протеинурия, анемия, рецидивиращи инфекции, хиперкалциемия, осалгия, бъбречни дисфункции)

4. При пациенти със smoldering миелома и с висок (цитогенетичен) риск наблюдението е кратко или веднага се започва терапия с Lenalidomid +Dexa (PETHEMA)

Основни принципи на индукционно лечение на болни с активен миелом

1. Съвременните режими I линия са три основни групи на базата на протеазомни инхибитори (Bortezomib, Carfilzomib) и имуномодулатори (Thalidomud, Lenalidomide) + в комбинация с Dexamethazon, помежду си или с алкилиращи агенти. Съвременните схеми:
 - се отличават с висока ефективност
 - не ограничават стволовоклетъчната колекция
 - дават бърз и качествен (CR, nCR, VGPR) терапевтичен отговор
 - удължават DFS, PFS, OS
 - имат минимална хематологична токсичност с ниска честота на неутропения и тромбоцитопения
 - дават възможност за перорално приложение
 - са ефективни при бъбречна недостатъчност, при високорискови пациенти с неблагоприятен цитогенетичен профил или напреднала възраст

- се отличават с липса на кръстосана резистентност
- пораждат нови проблеми свързани с лечението: полиневропатия, тромбоемболични усложнения, херпетични инфекции и спорното „зачестяване“ на екстрамедуларните рецидиви

2. Протеазомните инхибитори и имуномодулаторите промениха терапевтичната стратегия при заболяването. Основна цел на лечението вече не е само постигането на строго дефинирана пълна ремисия, а нейната консолидация и удължаване времето на PFS, TTP, EFS и OS.
3. Този комбиниран подход разделя пациентите за индукционно лечение на две основни групи : **подходящи и неподходящи за високодозови режими и трансплантация** при преценка на рисковия профил, възрастта и съпътстващата коморбидност
4. Съществува консенсус по отношение ефективността на индукционните режими, но по отношение на продължителността на курсовете все още липсва общоприето мнение – напълно възможното ранно постигане на ремисия съкращава броя на курсовете (2?), като при това се „издърпва напред“ и СКТ. Препоръчваните схеми при резистентни или релапсирани болни са също много и с почти идентични резултати по отношение ефективността и преживяемостта.
5. Необходимостта от поддържащо лечение е потвърдена в редица проучвания и представлява съвременна терапевтична опция, независимо от извършената или не ASCT.

Терапевтични индукционни режими при подходящи за трансплантация пациенти.

А) Препоръчителни и най-често прилагани режими

Терапевтичен режим	ORR	CR	Категория
Bortezomib + Dexamethazone (IFM coop group)	78%	14,8%	1
Bortezomib + Doxorubicin+Dexamethazone (HOVON-65/GMMG-HD4)		31%	1

Bortezomib + Thalidomide +Dexamethazone (GIMEMA; PETHEMA/GEM)		31%	1
Lenalidomide + Dexamethazone (SWOG, Mayo Clinic)	80%	22%	1
Bortezomib + Lenalidomide+ Dexamethazon (Evolution)	100%	52%	2a
Cyclophosphamid+ Bortezomib + Dexamethazone (GDSMM)	75%	22%	2a

В) Други режими

Thalidomide +Dexamethazone	63%		2b
Carfilzomib + Lenalidomid + Dexamethazon		42%	2a
Lipozomal Doxorubicin + Vincristin+ Dexametazon		23%	2b
Dexametazon			2b

Терапевтични индукционни режими при неподходящи за трансплантация пациенти

А) Препоръчителни и най-често прилагани режими

Терапевтичен режим	ORR	CR	Категория
Melphalan+Thalidomid + Prednisolon (MTP) (HOVON)	76%	27,9%	1
Melphalan+Bortezomib + Prednisolon (MBP) (VISTA)	81%		1
Lenalidomide + ниски дози Dexamethazon (SWOG SO232)	73%		1
Bortezomib+ Dexamethazon	73%		1a
Melphalan + Lenalidomid + Prednisolon (MPL)			1a

В) Други режими

Lipozomal Doxorubicin + Vincristin+ Dexametazon			2b
Thalidomid +Dexamethazone			2b
Vincristin+ Doxorubicin+Dexamethazon (VAD)			2b
Melphalan + Prednisolon			2b

Терапевтично поведение след I линия терапия

При постигане на ремисия съществуват следните опции:

1. Автоложна костномозъчна трансплантация при предварително подбрани пациенти (колекция на стволови клетки за две трансплантации – тандем режим или като спасяваща терапия) **1**
2. Алогенна костномозъчна трансплантация при определени пациенти или в клинични проучвания
3. Преминаване към поддържащо лечение при пациенти неподходящи за СКТ
 - Interferon- α **2b**
 - ГКС **2b**
 - Thalidomide $\pm$ Prednisone **2b**
 - Lenalidomide $\pm$ Prednisone **2b**
 - Bortezomib **2b**
 - Интермитентно алкилиращи агенти при пациенти неподходящи за трансплантация **3**
4. Контрола на терапевтичния отговор: М-градиент, ПКК, азотните тела, коригиран серумен Са, образна диагностика, миелограма през 3 месеца до реализиране на СКТ или появата на рецидив при неподходящи за трансплантационни програми пациенти

Поведение при прогресия или релапс на болестта

1. При **биохимичен релапс** (удвояване на М-градиента в две последователни контроли за < 2 месеца: ниво на М-градиент над 10g/l в серума или повишение на М-градиента над 500 mg/24h в урината или повишение на FLC над 20 mg/dl или отклонение в $\kappa : \lambda$ ratio над 25%) е възможно наблюдение или продължаване на поддържащото лечение
2. При клиничен релапс (CRAB), особено при агресивен – незабавен старт на лечението.
3. При избора на лечение за релапсирани

болни се прави анализ на **началния индукционен режим и неговата ефикасност, статуса на пациента и типа на релапса (агресивен, интермедиарен и лекостепенен)**

4. При късен релапс с давност > 6 месеца-повторение на индукционния режим (retreatment) При постигане на ремисия и подходящи болни –АСКТ 1b
5. При релапс < 6 месеца, при резистентност или прогресия на ММ и при болни неподходящи или с невъзможност за трансплантация се включват нови агенти (Carfilzomib, Ixazomib, Marizomib, Oprozomib, Pomalidomide и др) Уместно е включването в клинични проучвания.
 - Bortezomib + Dexamethazone (ако не са правени)
 - Bortezomib + Liposomal Doxorubicin
 - Bortezomib+ Lenalidomide+ Dexamethazone
 - Bortezomib + Thalidomide + Dexamethazone
 - Lenalidomide + Dexamethazone (ако не са правени)
 - Carfilzomib
 - Високодозиран Cyclophosphamide
 - C-VAD, Hyper - CVAD, DCEP, DT –PACE, BLT-D
 - Pomalidomide + Dexamethazone
 - Bendamustine $\pm$ ГКС
 - Bortezomib + Vorinostat
 - Lenalidomide + Bendamustine + Dexamethazone
 - Участие в клинични проучвания
6. При постигане на PR/CR - обсъждане за трансплантация
7. При неповлияване от II линия терапия и спасяващите режими
 - Индивидуална програма
 - Симптоматично и палиативно поведение

Поведение при пациенти в посттрансплантационния период

1. При автоложна стволовоклетъчна трансплантация

- **При постигане на терапевтичен отговор:**
 - а) наблюдение и пълен биохимичен контрол през 3 месеца или
 - б) повторна (тандем) трансплантация или
 - в) поддържаща терапия (Lenalidomide, Bortezomib, INF – α)
- **При прогрес на заболяването:**
 - а) спасяващи режими или
 - б) клинични проучвания или
 - в) обсъждане възможностите за алогенна к.м. трансплантация

2. При алогенна стволовоклетъчна трансплантация

- **При постигане на терапевтичен отговор**
 - а) наблюдение и биохимичен контрол през 3 месеца или
 - б) при необходимост - поддържащо лечение (Lenalidomide, Thalidomide, Bortezomib, INF – α)
- **При данни за прогрес**
 - а) спасяващи режими или
 - б) клинични проучвания или
 - в) инфузия на донорски лимфоцити

Лечение на POEMS синдром –основни методи:

- Лъчетерапията при пациенти с изолирани костни поражения
- Радиоактивен стронций – при генерализирани костни лезии
- Химиотерапия с алкилиращи агенти, имуномодулатори + ГКС
- анти - VEGF-1 (Bevacizumab)
- ASCT

ЛЕЧЕНИЕ НА ПЛАЗМОКЛЕТЪЧНАТА ЛЕВКЕМИЯ

1. Индукционно лечение при първичните форми – предпочитат се трикомпонентните схеми с инкорпориран антрациклин):

- Cyclophosphamid + Bortezomib + Dexamethazone
- Bortezomib+ Lenalidomide+ Dexamethazone
- Bortezomib + Liposomal Doxorubicin + Dexamethazone
- Lenalidomide + Dexamethazone
- ASCT

2. Вторични форми – лоша прогноза (спасяващи режими)

- Високодозиран Cyclophosphamide +ГКС
- C-VAD, Hyper - CVAD, DCEP, DT –PACE, BLT-D
- Комбинирано лечение с трикомпонентни режими (ако не са правени) протеазомни инхибитори + имуномодулатори + антрациклини +ГКС
- ASCT

ЛЕЧЕНИЕ НА УСЛОЖНЕНИЯТА

1. Лечение и профилактика на костните поражения

1. При пациенти с доказани остеолитични огнища

- Прилагат се i.v. всеки месец: Pamidronic acid, Zolenronic acid
- При ограничения за парентерално лечение се прилагат перорални бифосфонати

2. При пациенти с остеопороза/остеопения без остеолитични огнища

- Приложението на бифосфонати е препоръчително, но не е общоприета стратегия

3. Продължителност на лечението с бифосфонати:

- Месечната терапия се прилага в продължение на около 18 месеца – с продължителното лечение нараства честотата на остеонекрозата на челюстите.
- При пациенти с пълна или частична ремисия (стабилна фаза плато) лечението се прекъсва
- При продължаване на активната химиотерапия, бифосфонатите се прилагат през 3 месеца.

4. Преди лечението с бифосфонати е необходимо:

- подробен дентален статус
- довършване на евентуални инвазивни краниофациални процедури

5. По време на лечението с бифосфонати се препоръчва:

- периодичен, вкл рентгенологичен контрол на максило-фациалната зона
- да се избягват при възможност хирургическите манипулации
- консервативното поведение е с предимство.

6. Палиативна RT, хирургическа декомпресия, ортопедично лечение:

- при тежка изявена осалгия и ограничени движения
- патологични вертебрални и невертебрални фрактури
- компресия на medula spinalis
- кифопластика
- Ограничение на физическото натоварване, предпазни колани и корсети
- Задължителен рентгенологичен/ КАТ контрол на засегнатите и предилекционни зони
- Периодичен денситометричен контрол
- Периодичен контрол на показателите за остеокластна функция и костна деструкция

II. Лечение и профилактика на бъбречните усложнения.

1. При бъбречна недостатъчност патогенетичното лечение се провежда

с високодозиран Dexamethazone или комбинацията Bortezomib (Velcade) + Dexamethazone

2. Избягват се и се коригира дозата на всички нефротоксични, дехидратиращи и рентгенконтрастни медикаменти, особено в условията на лековерижна протеинурия и начална бъбречна недостатъчност :

- нестероидни противовъзпалителни средства
- аминоклюкозидни антибиотици, антивиралните (acyclovir) и антимикотични медикаменти (Ampro –B)
- ACE – инхибитори, салиуретици, високодозирани цитостатици (Platinium), бифосфонати

3. Адекватно парентерално или перорално оводняване, включително и през нощта ± алкализирание на урината
4. Лечение на суперпонираната уроинфекция
5. Избягване на манипулации в долните етажи на отделителната система.
6. Коригиране на т.н. реверзибелни елементи на бъбречната недостатъчност: хиперурикемия (диета+Allopurinol), хипер-калциемията, алкално-киселинното равновесие, диселектролитемията.
7. Плазмафереза
8. Хрониодиализа.
9. Бъбречна трансплантация

III. Лечение на хиперкалциемична криза

- Рехидратация – 4- 6 l вливания за 24^h
- Furanthril – 40 –80 mg i.v.
- Methylprednisolone – 20-30 mg /6^h i.v.
- Calcitonin –4E/kg/12^h i.v. или
- Zolenronic acid –8 mg i.v. + 500 ml инфузия или
- Ibandronic acid - 4 mg i.v. или
- Pamidronic acid –60 –90 mg/500 ml/24^h i.v. или
- Clodronic acid – 600-900 mg/500 ml/24^h i.v

IV. Профилактика на анемията - приложение на Erythropoetin при:

- Hb под 100g/L в доза 40 000 IU седмично / или 3 пъти седмично по 10 000 IU
- Hb между 100 - 110 g/L с прогресиращи анемични симптоми

V. Лечение на инфекциозните усложнения

1. Интравенозни имуноглобулинови продукти при тежък хуморален дефицит и рецидивиращи инфекции
2. Антипневмококови и интвивирални ваксини
3. Антихерпесна и антимикотична профилактика при високодозиран Dexamethazon
4. Антихерпесна профилактика при режими с Bortezomib

Lenalidomide and Dexamethazone (VRD) induction followed by autologous stem cell treatment, VRD consolidation and Lenalidomide maintenance in newly diagnosed multiple myeloma patients. Blood 2010; 116 abstr 624

11. Roussel M et al First line treatment and maintenance in newly diagnosed multiple myeloma patients. *Cancer Res* 2011; 189: 189-206
12. Sonnenweld P et al. Bortezomib induction and maintenance treatment in patients with newly diagnosed multiple myeloma: results of the randomized phase III HOVON 65/ GMG-HD4 trial *J Clin Oncol* 2012;30: 2946-2955
13. Stadtmauer EA Multiple myeloma 2004 – one or two transplantations *New Engl J Med* 2003; 349: 2495-2502
14. Zamagni E et al. The role in imaging techniques in the management of multiple myeloma *Br J Haematol* 2012; 159: 449-513

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Cavo M et al. Bortezomib with Thalidomide plus Dexamethazone as induction therapy before and consolidation therapy after double autologous stem cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a randomized phase 3 study *Lancet* 2010; 376: 2075-2085
2. Fonseca R et al. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma *Leukemia* 2009; 23: 2210-2221
3. Jakubowiak AJ et al A phase 2 study of Carfilzomib in combination with Lenalidomide and low dose Dexamethazone as a frontline treatment in multiple myeloma *Blood* 2012; 120: 1801 -1809
4. Kumar SK. Mobilization in myeloma revised IMWG consensus perspectives on stem cell therapy with Thalidomide, Lenalidomide or Bortezomib containing regimens *Blood* 2009; 114: 1729-1735
5. McCarthy PL et al Lenalidomide after stem cell transplantation for multiple myeloma *N Engl J Med* 2012; 366: 1770-1781
6. NCCN Practice Guidelines in Oncology v.2.2014; Multiple myeloma
7. Richardson P et al. Lenalidomide, Bortezomib and Dexamethazone therapy in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* 2010; 116: 679-686
8. Rieder CB et al. Cyclophosphamide and Dexamethazone induction for newly diagnosed multiple myeloma: high response rates in phase II clinical trial. *Leukemia* 2009; 23: 1337-1341
9. Rosinol L et al. Superiority of Bortezomib Thalidomide and Dexamethazone as induction pretransplantation therapy in multiple myeloma: a randomized phase 3 PETHEMA/GEM study *Blood* 2012; 120: 1589-1596
10. Roussel M et al. Frontline therapy with Bortezomib,

БОЛЕСТИ НА ЛЕКИТЕ ВЕРИГИ
AL-АМИЛОИДОЗА & БОЛЕСТ НА ЛЕКОВЕРИЖНИТЕ ДЕПА

**В. Горанова–Маринова¹, Н. Цветков², Е. Хаджиев³, Г. Арnaudов⁴, В. Геров⁵, А. Недева⁶,
Врачев⁷, С. Горанов¹**

¹Клиника по клинична хематология УМБАЛ «Св Георги» - Пловдив; ²Клиника по клинична хематология УМБАЛ, «Н.Странски»- Плевен; ³Клиника по клинична хематология УМБАЛ «Александровска» - София; ⁴Отделение за СКТ, СБАЛХЗ – София; ⁵Клиника по клинична хематология, УМБАЛ «Св Марина»- Варна; ⁶Клиника по клинична хематология, ВМА – София; ⁷Отделение по Клинична хематология УМБАЛ Стара Загора

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Болезните на леките вериги са хетерогенна група заболявания, резултат от малигнена пролиферация на плазматични клетки, секретирани структурно хомогенни, моноклонални леки вериги с повишена склонност към тъканни отложения.

Двете основни форми на заболяването AL-amyloidosis и Light chain deposition disease се различават по електронно микроскопската характеристика на отложенията, съответно конгорот-позитивни, β -фибрилерни структури с лековерижен компонент и нефибрилерните електронно плътни лековерижни депозити, разположени линеарно или грануларно субендотелно и интрамембранозно с негативни тинктуриални свойства.

LCDD и AL-амилоидозата притежават много общи черти и твърде голяма прилика: лековерижни детерминанти с подобни механизми на отложение, срещат се при малигнени и бенигнени заболявания, склонност към висцерално разпространение в почти едни и същи органи и системи и близка до еднотипна клинична картина.

ЧЕСТОТА:

неуточнена, но около 10-15% от плазмацитните заболявания

ДИАГНОЗА:

Анамнеза

Физикален статус (данни за макроглия, кардиомегалия, хепатомегалия, ортостатизъм, нарушена чревна адсорбция, масивна, неселективна и флукуираща протеинурия с нефротичен синдром, БН, периферна полиневропатия, синдром на карпалния тунел, кожна пурпура, периорбитален едем, слабост и загуба на тегло).

1. Хематалогични и биохимични базисни изследвания за разнообразните органи дисфункции:

- ПКК, ДКК
- LDH, β 2-микроглобулин, CRP

Бъбречна функция

- урея, креатинин, пик к-а
- протеинурия (качествено и количествено)
- общ белтък, албумин

Сърдечна функция

- ЕКГ
- ЕхоКГ
- Тропонин, натриуретичен пептид тип В (NPВ)

Черен дроб и стомашно-чревен тракт

- Алкална фосфатаза, GTP, ALAT, ASAT

- Билирубин, общ белтък, албумини, ПВ, АППТ, ф.Х
- ФГС
- Ехография на черен дроб/далак

Периферна нервна система

- ЕМГ

Ендокринни тестове

- TSH, Cortisol

Белодробни тестове

- Газов анализ и АРР

2. Електронномикроскопска, цитоморфологична, имунохимична и имунохистохимична диагноза

- миелограма, трепанобиопсия (най-често плазмноклетъчната инфилтрация е в ниски стойности, но секретираният леки вериги имат изключителен тропизъм и склонност за формиране на тъканни депозити)
- Биопсия от Linea alba abdominalis, гингивална, ректална лигавица, canalis carpi, органна биопсия
- Тинктуриален тест с конго-рот за амилоидоза (негативен при LCDD)
- Електронна микроскопия (β -плисирана

структура при AL-амилоидоза и електронно плътни гранулерни депа при LCDD)

- Имунохистохимия с лековерижен панел
- Костномозъчна/периферна флоуцитометрия: CD45-, slg+, CD19 $\pm$, CD 20 $\pm$, CD138, CD79a/b +, CD38+, CD56+, CD10 $\pm$
- Имуноелектрофореза/имунофикасация на серум/урина за М-градиент
- Количествено свободни леки вериги (FLC) и **съотношението к:λ**
- Количествено определяне на моноклонални и нормални имуноглобулини

3. Образни методи

- Рентгенография на плоски кости, вкл гръдна клетка
- ЯМР

4. Допълнителни изследвания при необходимост

- HLA – типизиране
- Костна-или костномозъчна сцинтиграфия

ТЕРАПЕВТИЧЕН ОТГОВОР

Терапевтичен отговор	Критерии
Хематологичен:	
CR	○ Негативни данни за М-градиент в серум/урина чрез имунофиксация ○ Нормално съотношение к :λ ○ Без плазматични клетки в к.м.
VGPR	○ dFLC < 40 mg/l
PR	○ понижение на dFLC $\geq$ 50%
Бъбреци	○ понижение с повече от 50% на протеинурията/24 часа ○ липса на динамика в нивото на креатинина или повишение $\geq$ 0,5g/l
Сърце	○ понижение дебелината на интравентрикуларния септум с 2 мм ○ повишение на фракцията на изтласкване с 20% ○ понижение на NT-ProBNP $\geq$ 30% (min 300 ng/L)
Черен дроб	○ понижение с 50% на алкалната фосфатаза ○ понижение на чернодробните размери с поне 2 см

ЛЕЧЕНИЕ

Консенсус по отношение на терапевтичните опции за амилоидоза все още не съществува. Лечението е ориентирано към две основни и успоредно провеждащи се терапевтични стратегии – подтискане на плазмоцитната инфилтрация, респективно лековерижната продукция и симптоматично лечение на разнообразните органични усложнения и дисфункции. Новите лекарствени продукти –протеозомни инхибитори и имуномодулатори показват в клинични проучвания по-добри резултати от конвенционалното поведение (пулс терапия с ГКС и/или Cyclophosphamid)

Лечение на основното заболяване.

Препоръчват се следните равностойни опции, всичките с категория 2a

- Bortezomib ± Dexamethazone
- Bortezomib + Cyclophosphamid + Dexamethazone
- Bortezomib + Melphalan + Dexamethazone
- Dexamethazone +alpha Interferon
- Cyclophosphamide+Thalidomide + Dexamethazone
- Melphalan –интермедиерни или високи дози
- Lenalidomide + Dexamethazone
- Thalidomide + Dexamethazone
- Pamalidomid + Dexamethazone
- Melphalan високи дози + автоложна стволовоклетъчна трансплантация
- Бъбречна трансплантация
- Хронична диализа

Лечение на органните дисфункции.

Макар, че се появяват малко по-късно в клиничната картина на заболяването, органните дисфункции са най-честия повод за диагностициране на амилоидозата, владеят клиничната манифестация, модулират терапевтичния отговор и са повод за леталния изход.

- Best supportive care: симптоматично и рено-, кардио-, хепатопротективно и друго в зависимост от органната дисфункция

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Comenzo RL et al. Consensus guidelines for the conduct and reporting of clinical trial in systemic light –chain amyloidosis. *Leukemia* 2102 Available at: www.ncbi.nih.gov/pubmed/22475872
2. Cordes S et al Ten year survival after autologous stem cell transplantation for immunoglobulin light chain amyloidosis. *Cancer* 2012 Available at: www.ncbi.nih.gov/pubmed/22707405
3. Dispenzieri A et al. Activity of pamalidomide in patients with immunoglobulin light chain amyloidosis. *Blood* 2012; 119: 5397-5404
4. Gertz M et al. Definition of organ involvement and treatment response in AL amyloidosis: a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis. *Am J Hematol* 2005; 79:319-328
5. Kastridis E et al. Treatment of light chain (AL) amyloidosis with the combination of bortezomib and dexamethazone. *Haematologica* 2007; 92:1351-1358.
6. Kumar SK et al Lenalidomide, cyclophosphamide and dexamethazone for light chain amyloidosis: long term results from a phase 2 trial *Blood* 2012; 119: 4860-4867
7. Lamm W et al Efficacy of the combination of bortezomib and dexamethazone in systemic AL amyloidosis *Ann Hematol* 2011;90:201-206
8. Paladini G et al. Validation of the criteria of response to treatment in AL amyloidosis *Blood* 2010; 116; abstr 1364
9. NCCN Practice Guidelines in Oncology v.2.2014; Systemic Light Chain Amyloidosis
10. Santhoraval V. Role of high dose melphalan and autologous peripheral blood stem cell transplantation in AL-amyloidosis. *Am J Blood Res* 2012; 2: 9-17

РЕДАКЦИОННА РУБРИКА

Уважаеми колеги,

Ето и новият брой на нашето списание за 2014 г. Както вече сте забелязали, наименованието е леко променено - „Клинична хематология“, като за това са спазени всички нормативни изисквания.

Излизането на новия брой съвпада с XI^{мама} Национална конференция по клинична хематология, която ще се проведе от 9 до 11 октомври, в хотел „Империял“- Пловдив. Тъй като списанието ще бъде част от материалите на конференцията, имаме реалната възможност то да бъде веднага на разположение на всички участници от хематологичната ни общност.

В новия брой, за първи път, публикуваме разделите Миелопролиферативни заболявания и Болести на плазмоцитната редица от предстоящите за издаване „Методични указания за диагностика, лечение и проследяване на заболяванията на кръвта и кръвотворните органи - III версия“. Отделните нозологични единици са дело на съответните работни групи, към нашето научно дружество, под ръководството на доц. Л. Герчева и проф. Ст. Горанов. Така, преди официалното им публикуване в Методичното ръководство, те ще бъдат на Ваше разположение за всякакви обосновани корекции и предложения. Редколегията ще процедира по същия начин и с голямата група лимфопролиферативни заболявания (ръководител - проф. Г. Михайлов), които ще бъдат публикувани в следващия брой на списанието.

Приканвам всички хематолози, особено от академичното съсловие на университетските ни клиники, за по-голяма творческа активност в нашето списание. Имайки предвид докладите, които ще бъдат изнесени на XI^{мама} Национална конференция, виждам сред тях научни работи почти готови за публикации и особено пък тези, които ще бъдат наградени. Нека колегите да не ги забравят и забавят! Същото се отнася и за участниците в изданията на националния симпозиум „Млад хематолог“. Там също имаше, и ще има, сериозни научни съобщения и разработки.

Третият Национален симпозиум „Млад хематолог“ ще се проведе в хотел „Калина Палас“, гр. Трявна, в периода 07 - 09 ноември 2014 г. Повече информация можете да получите от сайта на Хематологичното ни сдружение – www.bulgarian-hematology.com.

Главен редактор
– проф. Ст. Горанов, гмн

НОВ ЦЕНТЪР ЗА СТВОЛОВОКЛЕТЪЧНА ТРАНСПЛАНТАЦИЯ

На 15 юли 2014 г. бе тържествено открит, от министъра на здравеопазването - г-р Ангелеева, отдавна готовия център за стволороклетъчна трансплантация (СКТ) към клиниката по Клинична хематология, при УМБАЛ „Св. Георги“- ЕАД Пловдив.

Приключи една сага започнала преди 5 години. В центъра ще работят асистенти от клиниката, преминали обучение в чуждестранни и наши трансплантационни звена. Центърът е оборудван със съвременна апаратура за колекция и съхраняване на стволови клетки. Боксовете отговарят на всички санитарно-хигиенни изисквания за пълна външна и вътрешна деконтаминация. Екипът на клиниката е благодарен за колегиалната помощ и логистична подкрепа на опитните трансплантолози от софийските екипи на проф. г-р Г. Михайлов от СБАЛХЗ и доцент г-р Д. Константинов от СБАЛДОХЗ. В момента, във фаза на претрансплантационна обработка, са включени 4 пациента. Първите трансплантации ще бъдат извършени към края на годината.

От редакционната колегия

ПРЕПОРЪКИ КЪМ АВТОРИТЕ

Редакционната колегия отправя молба към всички, които биха предложили материали за публикуване в научните издания на дружеството, да спазват следните изисквания:

1. Ръкописите се представят в два идентични екземпляра, написани на стандартни машинописни страници (30 реда, 60-66 знака на ред) или се изпращат в електронен формат.
2. Имената на авторите (разположени под заглавието) са в порядъка: собствено (съкратено с една буква и точка) и фамилия, следвани от местоработата.
3. Материалите не трябва да превишават следните размери:
 - **За Оригинални статии**, включително илюстрации и библиография (до 10 източника) без резюметата – 5-6 страници.
 - **За Обзори** – 10-15 страници.
 - **За раздел “Казуистика”** (лечебни, диагностични методи и др.) – 3 стр.
 - **За Реферати на статии** – 3 стр.
4. Всяка статия трябва да съдържа следните раздели: увод, материал и методи, резултати, обсъждане, заключение, библиография.
5. Библиографията се представя на отделна страница и съдържа до 10 източника за оригиналните статии и до 20 за обзорите. Източниците се подреждат според реда на използването им в текста, (не по азбучен ред).

Цитиране на статии: Фамилно име и инициал на всички автори, ако те са до трима. При повече от трима автори се посочват първите трима, последвано от “et al”, наименованието на списанието в съкратен вид според Index Medicus, година на публикуване, том, месец, брой, страници.

Цитиране на книги и монографии:
Автори, заглавие, място на издаване, издателство, година на издаване, страници

6. Резюмето (до 15 реда) се представя на български и на английски език в три екземпляра, съдържащи имената на

авторите и заглавието, както и ключови думи на български и английски език.

7. Фигури, диаграми, формули, черно-бели снимки (9x12 см) се представят на отделни листове със съответните заглавия, минимален обяснителен текст и легенда на български език. Те трябва да са максимално контрастни с едри букви и цифри, годни за непосредствено полиграфско възпроизвеждане. В лявото бяло поле на текста се посочва желаното място за поместване на всяка илюстрация.
8. Таблиците могат да се предоставят в текста или на отделни листове. Във втория случай се следват изискванията за фигури, диаграми, формули и форграфии.

ВАЖНО ! НОВО !

9. В случай, че материалите се изпращат по електронен път, всички картинки, таблици или схеми се предоставят като отделни файлове във формат .jpeg, .bmp или .tiff, в адекватна като качество резолюция, като имената на файловете на всяка картинка се изписват по адекватен начин, отговарящ на типа картинка и пореден номер – figura 1, tabliza 1 или друго. Картинките трябва да са разположени в текстовия файл на статията, за да се знае точното им местоположение. Моля да се има предвид, че всички картинки, таблици или схеми се отпечатват черно-бели.
10. В края на статията или на отделен лист се посочват трите имена на водещия автор и адресът за кореспонденция.
11. Всички материали да се изпращат на адреса на редакцията на сп. “Клинична хематология” – гр. Пловдив, бул. Васил Априлов № 15А, Клиника по Клинична хематология към УМБАЛ „Св. Георги“ ЕАД, за проф. д-р Стефан Горанов, дмн.

Всички текстови и графични материали се изпращат задължително и на електронен адрес: **stefangoranov@yahoo.com**



БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ

Клиника по клинична хематология
при Медицински университет и Университетска болница „Св Георги“- Пловдив

организируют

XI НАЦИОНАЛНА КОНФЕРЕНЦИЯ ПО КЛИНИЧНА ХЕМАТОЛОГИЯ

*„Съвременни терапевтични предизвикателства при
възрастни пациенти с индолентни лимфоми и миеломна
болест. Контраверсии“*

**9-11 Октомври 2014
хотел „Империал“- Пловдив**

Основните теми на XIтата Национална конференция
по клинична хематология са:

- ✓ *Съвременна лечебна стратегия при индолентните лимфоми в ерата на таргетната терапия.*
- ✓ *Поддържащо лечение при индолентни лимфоми и мултиплен миелом.*
- ✓ *Лечение на усложнения при мултиплен миелом: миеломна нефропатия, амилоидоза, костни поражения, екстрамедуларен дебют и рецидиви, ортопедични и неврохирургични корекции.*
- ✓ *Трансплантация на стволови клетки.*

Фирма организатор:

Импресив ЕООД, 4003 Пловдив, ПК 85, 0889 546 506, sotirov.joro@gmail.com

Повече информация можете да откриете на:
www.plovdiv14.bulgarian-hematology.com